

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

**PRESERVAÇÃO DE PURÊ DE MAÇÃ (*Malus Domestica* Borkh) POR
AGENTES QUÍMICOS E FÍSICOS**

Rosiele Couto Corrêa

Pelotas, 2016

Rosiele Couto Corrêa

Preservação de purê de maçã (*Malus domestica Borkh*) por agentes químicos e físicos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. PhD. Leonardo Nora

Coorientadora: Dra. Ana Cristina Krolow

Pelotas, 2016

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C823p Corrêa, Rosiele Couto

Preservação de purê de maçã (*Malus domestica* Borkh) por agentes químicos e físicos / Rosiele Couto Corrêa ; Leonardo Nora, orientador ; Ana Cristina Krolow, coorientadora. — Pelotas, 2016.

122 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2016.

1. Eritorbato de sódio. 2. Ácido eritórbito. 3. Ácido kójico. 4. Ácido ascórbico. 5. Escurecimento enzimático. I. Nora, Leonardo, orient. II. Krolow, Ana Cristina, coorient. III. Título.

CDD : 664

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Banca Examinadora:

Prof. PhD. Leonardo Nora – DCTA – FAEM – UFPEL

Pesq. Dra. Ana Cristina Krolow – EMBRAPA – CPACT

Prof. Dr. Fabrízio da Fonseca Barbosa– UFPEL

Pesq. Dr. Gabriel OlléDalmazo– DCTA – FAEM – UFPEL

Profa. Dra. Giniani Carla Dors– DCTA – FAEM – UFPEL

Dedico às pessoas mais importantes da minha vida, meus pais!

Osi Gonçalves e Cléa Corrêa foram incansáveis no apoio, incentivo e acima de tudo acreditaram na minha capacidade com a frase que meu pai me ensinou e que levo para toda vida:

“Não vencerás pela inteligência, vencerás pelo esforço”.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pela oportunidade dessa vida maravilhosa e feliz que eu tenho. De estar aqui forte e firme trabalhando estudando e colhendo bons frutos.

Em especial, a minha família, meu pai Osi Gonçalves Corrêa, mãe Cléa Mariza Couto Corrêa, Manas Rosiane Couto Corrêa, Rosimeri Corrêa de Souza, Rosicler Couto Corrêa e mano Rosimar Couto Corrêa pelo incentivo, carinho, admiração, cuidado e principalmente pelos conselhos e amor a mim dispensados em todo esse período transitório e conturbado de trabalho e estudo.

A pesquisadora, Dra. Ana Cristina Krolow, pela paciência, cuidado atenção e aprendizados que vou levar para vida toda. Uma pessoa que admiro muito pela sua capacidade e grandes ensinamentos, apoio e amizade transmitidos durante a realização do trabalho.

Ao professor, PhD. Leonardo Nora, pela orientação, paciência com as minhas agitações a cada vez que nos encontrávamos e apoio e incentivo para realização deste trabalho.

À professora, MSc. Rosa de Oliveira Treptow, que sabiamente e carinhosamente auxiliou as análises sensoriais com otimismo, alegria e amor e muito me ensinou e incentivo a crescer e focar no meu objetivo.

Ao MSc. Mauricio Seifert pela ajuda prestada em parte desta dissertação, com extrema dedicação e amizade.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Fisiologia Pós-Colheita e de Tecnologia de Alimentos da Embrapa Clima Temperado, que participaram desta fase da minha vida, com carinho, amizade e ensinamentos.

Aos meus colegas de mestrado que foram maravilhosos e essenciais a esse título visto que sempre me incentivaram, auxiliaram nas noites de estudos, trabalhos em grupo e em todos os momentos, de nada seria da vida se não pudéssemos contar com amigos, pessoas estas que não precisam estar junto para estar perto, mas que a todo o momento a torcida e incentivo é constante.

As minhas amigas que sempre foram compreensivas quando não pude acompanhá-las para as coisas que mais gostamos de fazer visto que o trabalho e os estudos tornaram-se prioridade na maioria das vezes. Foram as pessoas que me apoiaram e me incentivaram para a conclusão e o êxito desse trabalho e que sempre foram companheiras para os momentos de desabafo e de refúgio, podem ter certeza que o apoio de vocês foi um impulso para minha vida.

À Universidade Federal de Pelotas, e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À Embrapa Clima Temperado, pela disponibilização de sua estrutura, aonde meu trabalho de mestrado pode ser executado.

Resumo

CORRÊA, R. C. **Preservação de purê de maçã (*Malus domestica Borkh*) por agentes químicos e físicos** 2016. 122f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Reações químicas e bioquímicas rapidamente comprometem as características sensoriais e nutricionais do purê de maçã. Vários antioxidantes são eficazes para inibir as referidas reações, entretanto, na concentração necessária, podem comprometer seu sabor e/ou o aroma. Neste estudo, com base na literatura e em experimentos preliminares, foram definidos tratamentos que consistiram na aplicação de diferentes antioxidantes, ou da combinação dos mesmos, em diferentes concentrações. Assim, maçãs fatiadas foram imersas em uma das 12 soluções antioxidantes, todas contendo CaCl_2 1 %: eritorbato de sódio (5 %, 7 % e 9 %), ácido kójico (0,07 %, 0,09 % e 1,1 %), ácido eritórbito (3 %, 5 % e 7 %) e ácido ascórbico (0,5 %) combinado com ácido cítrico (0,1 %, 0,3 % e 0,5 %). Os tratamentos com ácido eritórbito (5 %) e com eritorbato de sódio (7 %) resultaram em menor atividade de polifenoloxidasas e de peroxidases, maior concentração de compostos fenólicos, maior capacidade antioxidante e melhor desempenho nas variáveis relacionadas à aparência (valor L^* , a^* , b^* , índice de escurecimento, HUE, e CROMA). Na análise sensorial, o purê de maçã da cultivar **Fuji**, tratada com eritorbato de sódio (7 %), foi melhor avaliada. O tratamento com micro-ondas, além de reduzir a atividade enzimática, diminuiu a população de micro-organismos mesófilos aeróbios e de fungos filamentosos.

PALAVRAS-CHAVE: Eritorbato de sódio, ácido eritórbito, ácido kójico, ácido ascórbico, escurecimento enzimático.

Abstract

CORRÊA, R. C. Apple puree preservation (*Malus domestica* Borkh) by chemical and physical agents 2016.122f. Thesis (MA) - Graduate Program in Food Science and Technology. Federal University of Pelotas, Pelotas.

Chemical and biochemical reactions quickly compromise the sensory and nutritional characteristics of the apple puree. Various antioxidants are effective to inhibit such reactions; however, the required concentration may impair flavor and / or aroma. In this study, based on the literature and on preliminary experiments, treatments consisted in the application of different antioxidants, alone or combined, at different concentrations. Apple slices were treated with 12 different antioxidant solutions (all contained CaCl_2 1 %) as follows: sodium erythorbate (5%, 7% and 9%), kojic acid (0.07%, 0.09% and 1.1%), erythorbic acid (3%, 5% and 7%) and ascorbic acid (0.5%) combined with citric acid (0.1%, 0.3% and 0.5%). Treatments with erythorbic acid (5%) and sodium erythorbate (7%) resulted in lower activity of polyphenol oxidases and peroxidases, the higher concentration of phenolics, higher antioxidant capacity and performance in the variables related to appearance (L^* value, a^* , b^* , browning, HUE, and CROMA). In sensory analysis, apples treated with sodium erythorbate (7%) were better evaluated. In the microbiological evaluation, the test with experimental microwave oven Multiwave 3000® showed a reduction in the amount of aerobic mesophilic and filamentous fungi when used at 70 °C for 30s.

KEYWORDS: Erythorbic acid, sodium erythorbate, kojic acid, ascorbic acid, enzymatic browning.

Lista de Figuras

Figura 1. Purê de Maçã. Fonte: Acervo do Autor	26
Figura 2. Mecanismo geral de reação das polifenoloxidasas. Fonte: Belitz e Grosch, 1997.....	27
Figura 3. Estrutura química do (a) ácido ascórbico e (b) eritórbito. Fonte: ARAÚJO, 2008.....	30
Figura 4. Diagrama de fluxo das etapas do delineamento utilizado na definição do tratamento mais eficaz para manutenção da cor do purê de maçã, aceitação, sensorial e efetividade do micro-ondas na redução da carga microbiana.....	36
Figura 5. Cortador radial de aço inox utilizado no corte das maçãs. Fonte: Acervo do Autor.....	37
Figura 6. Obtenção de purê de maçã tratada com antioxidantes: (1) sanitização; (2) fatiamento; (3) preparação de soluções antioxidantes; (4) imersão de fatias de maçã em solução antioxidante; (5) drenagem de excesso de solução antioxidante e (6) trituração de fatias de maçã para obtenção de purê.....	38
Figura 7. Equipamento para tratamento com micro-ondas: (a) forno de micro-ondas experimental <i>Multiwave 3000</i> [®] ; (b) rotor equipado com os frascos de quartzo, (c) purê de maçã acondicionado nos frascos de quartzo.	39
Figura 10. *L de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior	51
Figura 11. *L de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior	52
Figura 12. *a de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada	

(16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (K) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 54

Figura 13. *a de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 55

Figura 14. *b de purê de maçã da cultivar **Fuji** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 56

Figura 15. *b de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 57

Figura 18. Hue de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 61

Figura 19. Hue de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e

CaCl₂ durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl₂ (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 62

Figura 20. Croma de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl₂ durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl₂ (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 63

Figura 21. Croma de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e CaCl₂ durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl₂ (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 64

Figura 22. Índice de Escurecimento de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl₂ durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl₂ (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 66

Figura 23. Índice de Escurecimento de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e CaCl₂ durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl₂ (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 67

Figura 26. pH de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 70

Figura 27. pH de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 71

Figura 28. Sólidos Solúveis de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 72

Figura 29. Sólidos Solúveis, de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 73

Figura 30. Acidez Titulável de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 74

Figura 31. Acidez Titulável de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 75

Figura 32. Maçã Fuji – Tratamento com ácido eritórbico 76

Figura 33. Maçã Fuji – Tratamento com ácido kójico 77

Figura 34. Maçã Fuji – Tratamento com ácido ascórbico combinado com ácido cítrico 78

Figura 35. Maçã Gala – Tratamento com ácido eritórbico 79

Figura 36. Maçã Gala – Tratamento com eritorbato de sódio. 80

Figura 37. Maçã Gala – Tratamento com ácido ascórbico combinado com ácido cítrico 81

Figura 40. Fenóis de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 86

Figura 41. Fenóis de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 87

Figura 42. DPPH de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações

(mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 88

Figura 43. DPPH de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 89

Figura 46. Inibição da peroxidase de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 93

Figura 47. Inibição da peroxidase de purê de maçã da cultivar Gala tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 94

Figura 48. Inibição da polifenoloxidase de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 95

Figura 49. Inibição da polifenoloxidase de purê de maçã da cultivar Fuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4 °C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em

solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior 96

Figura 50. Teste Duo-Trio para avaliação de sabor, em purês de maçã elaborados com eritorbato de sódio 7% e ácido eritórbico 5% das cultivares Fuji e Gala..... 97

Figura 52. Preferência em sabor dos purês tratadas com ácido eritórbico 5 % e eritorbato de sódio 7 % nas cultivares Fuji e Gala. 99

Figura 53. Somatório dos quatro primeiros níveis da escala hedônica para avaliação da influência do sabor nos purês tratadas com ácido eritórbico 5 % e eritorbato de sódio 7 % das cultivares Fuji e Gala. 100

Figura 54. Somatório dos quatro últimos níveis da escala hedônica para avaliação da influência do sabor nos purês tratadas com ácido eritórbico 5 % e eritorbato de sódio 7 % das cultivares Fuji e Gala. 100

Figura 55. Aceitação dos purês de maçã das cultivares Fuji e Gala tratadas com eritorbato de sódio 7 %..... 101

Listas de Tabelas

Tabela 1. Área, produção e rendimento de maçã por estado – Brasil (2013/14). Fonte: Adaptado de CEPA, 2014.	24
Tabela 2. Resultados de *L, a* e b* para purê de maçãs da cultivar Fuji, avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidantes.	47
Tabela 3. Figura 9. Resultados de *L, a* e b* para purê de maçãs da cultivar Gala, avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidantes.	48
Tabela 4. Resultados de *Hue, Croma* e IC* para purê de maçãs da cultivar Fuji avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidante.	58
Tabela 5. Resultados de *Hue, Croma* e IC* para purê de maçãs da cultivar Gala avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidante.	59
Tabela 6. Resultados de pH, Sólidos Solúveis e Acidez Titulável para purê de maçãs da cultivar Fuji avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidante.	68
Tabela 7. Resultados de pH, Sólidos Solúveis e Acidez Titulável para purê de maçãs da cultivar Gala avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidante.	69
Tabela 8. Resultados de minerais para purê de maçãs da cultivar Fuji e Gala avaliadas frente aos melhores tratamentos e doses de antioxidante.	82
Tabela 9. Resultados de Fenóis e DPPH para purê de maçãs da cultivar Fuji avaliada frente aos tratamentos e doses de antioxidante.	84
Tabela 10. Resultados de Fenóis e DPPH para purê de maçãs da cultivar Gala avaliada frente aos tratamentos e doses de antioxidante.	84
Tabela 11. Inativação enzimática de Peroxidase e Polifenoloxidase em purês de maçã da cultivar Fuji frente a tratamentos e doses.	91
Tabela 12. Inativação enzimática de Peroxidase e Polifenoloxidase em purês de maçã da cultivar Gala frente a tratamentos e doses.	91
Tabela 13. Teste de comparação pareada para avaliação da diferença de sabor entre os tratamentos com eritorbato de sódio 7 % e ácido eritórico 5 % em purês de maçã das cultivares Fuji e Gala.	98
Tabela 14. Contagem de coliformes totais, Escherichia coli, aeróbios mesófilos e fungos filamentosos em maçã Fuji inteira sanitizada e tratada quimicamente frente a ação de forno de micro-ondas el Multiwave 3000®.	105

Equações

Equação 1.....36

Equação 2.....36

Equação 3.....36

Equação 4.....36

Equação 5.....39

Sumário

1. INTRODUÇÃO	21
1.1 JUSTIFICATIVA	22
1.2 HIPÓTESES	22
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 Maçã	23
2.2 Purê de Maçã	25
2.3 Escurecimento Enzimático.....	26
2.4 Agentes Antioxidantes	28
2.6. Ação das micro-ondas	31
2.7 Características físico-químicas da maçã <i>in natura</i>	32
2.7.1. Sólidos Solúveis	32
2.7.2 Cor	32
2.7.2 Acidez Titulável.....	33
2.7.3 Compostos Fenólicos Totais.....	33
2.7.4Capacidade antioxidante.....	34
2.8. Avaliações Microbiológicas.....	34
2.9. Análise sensorial.....	35
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3.1 Material experimental.....	35
3.2 Métodos	37
3.2.1 Seleção e sanitização das frutas	37
3.2.2.1 Purê de maçã tratada com antioxidantes.....	37
3.2.2.2 Purê de maçã tratado com micro-ondas.	38
3.2.3 Análises físico-químicas.....	39
3.2.3.1Cor.....	39

3.2.3.2 Acidez titulável.....	40
3.2.3.3 Potencial hidrogeniônico.....	40
3.2.3.4 Sólidos solúveis	40
3.2.3.5 Fenólicos totais	40
3.2.3.6 Capacidade antioxidante	41
3.2.3.7 Atividade enzimática de polifenoloxidase e peroxidase	41
3.2.3.8 Minerais	42
3.2.4 Análise sensorial.....	43
3.2.5 Análises microbiológica	44
3.6 Análise estatística	46
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
4.1 Características físico-químicas	46
4.2 Características fitoquímicas.....	83
4.3 Inativação Enzimática	89
4. Análise sensorial.....	97
5. Influência da ação do micro-ondas na inativação enzimática	101
5.1.1 Ação de micro-ondas sob a microbiota.....	103
6. CONCLUSÕES.....	105
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	105

1. INTRODUÇÃO

A procura pela inserção de hábitos de vida mais saudáveis e naturais na cultura moderna, aliado a conhecimentos benéficos para saúde, têm contribuído para o aumento no consumo de frutas em todo o mundo. A relação entre compostos fenólicos presentes em alimentos e a sua capacidade antioxidante tem sido objetivo de diversas investigações. O consumo de alimentos contendo esses compostos é associado à baixa incidência de doenças crônicas como câncer e diabetes. Essas doenças estão relacionadas à escolha do estilo de vida das quais um dos fatores de maior importância é a composição da dieta alimentar (SAIJA et al., 1995).

O rápido escurecimento de purê de maçã resulta principalmente da oxidação de compostos fenólicos e de sua subsequente polimerização. O controle do escurecimento é sempre um desafio para a indústria, sendo o uso de antioxidantes uma excelente alternativa. Entretanto, a adição de antioxidante pode comprometer o aroma e o sabor natural do purê de maçã (NICOLAS et al., 1995). O tratamento térmico apresenta-se como um método eficiente para o controle do escurecimento, contudo, devido ao aquecimento, normalmente resulta em perdas sensoriais e nutricionais ao alimento (RAPEANU et al., 2005). O branqueamento térmico convencional com vapor ou água fervente pode ser substituído por micro-ondas com vantagens no tempo de processamento, retenção de vitaminas e sólidos solúveis bem como melhor cor do produto final (QUENZER; BURNS, 1981).

Neste contexto, buscou-se avaliar os efeitos de diferentes antioxidantes, ou da combinação dos mesmos, em diferentes concentrações, nas características físico-químicas e sensoriais de purê de maçã das cultivares **Fuji** e **Gala**.

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a ação de diferentes antioxidantes na redução do escurecimento enzimático de purê de maçã das cultivares **Fuji** e **Gala** e uso de micro-ondas na inativação enzimática e redução da carga microbiana.

1.1.2 Objetivo específico

Avaliar o efeito dos antioxidantes Eritorbato de Sódio (5 %, 7 % e 9 %), Ácido Kójico (0,07 %, 0,09 % e 1,1 %), Ácido Eritórbico (3 %, 5 % e 7 %) e Ácido Ascórbico 0,5 % combinado com três diferentes concentrações de Ácido Cítrico (0,1 %, 0,3 %, e 0,5 %) na preservação de purê de maçã, com base nas suas características sensoriais, atividade enzimática (polifenoloxidase e peroxidase), concentração de compostos fenólicos e de atividade antioxidante.

Avaliar a atividade enzimática (polifenoloxidases e peroxidase) e a população de micro-organismos mesófilos aeróbios e de fungos filamentosos em purê de maçã tratado com micro-ondas.

1.1 JUSTIFICATIVA

Reações químicas e bioquímicas rapidamente comprometem as características sensoriais e nutricionais do purê de maçã. Vários antioxidantes são eficazes para inibir as referidas reações, entretanto, na concentração necessária podem comprometer seu sabor e/ou o aroma. Assim, considerando-se a relevância alimentar do purê de maçã, as dificuldades enfrentadas pelo setor industrial decorrentes das limitações dos métodos disponíveis para conservação do mesmo, e da indisponibilidade na literatura de um estudo compreensivo sobre a utilização de antioxidantes na conservação de purê de maçã, justifica-se o presente estudo.

1.2 HIPÓTESES

O uso de diferentes antioxidantes pode causar efeitos benéficos no que se refere à qualidade sensorial e físico-química em purê de maçã das cultivares **Fuji** e **Gala**. Ainda assim, o uso de micro-ondas experimental inativa enzimas, mantém as características físico-químicas e atua na redução da carga microbiana.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Maçã

Cerca de 70 % do total de maçãs produzidas mundialmente destina-se ao consumo *in natura* e, o restante, para a indústria. Na sua maior parte, a fruta processada é destinada para a fabricação de sucos e o restante para vários produtos, tais como: purê de maçã, chips de maçã e pratos prontos entre outros destinos (CARVALHO, 2011).

Com novas tecnologias de plantio e produção, aliado aos conhecimentos científicos sobre seus benefícios, a agroindústria está se direcionando para a diversificação de ofertas da fruta na forma processada, para consumo doméstico e industrial. No Brasil, a maçã está entre as frutas de clima temperado que apresentou maior expansão em área plantada e em volume de produção nos últimos vinte anos. Segundo último dado consolidado pelo IBGE, o Brasil, em 2011, produziu 1,3 milhões de toneladas de maçãs, ficando classificado como 9º (nono) produtor mundial. O valor da produção de maçãs foi calculado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em R\$ 851,7 milhões. A produção brasileira ocupa 38 mil hectares, a maioria desses pomares estão em Santa Catarina (18 mil hectares) e Rio Grande do Sul (17 mil ha), segundo IBGE. O aumento da produtividade dos pomares de maçã é o principal responsável pelo incremento da produção desde 2001. Enquanto a área plantada aumentou 29%, a produtividade cresceu 50%. O Rio Grande do Sul, conforme dados da Associação Gaúcha dos Produtores de Maçã (AGAPOMI, 2013), possui 564 pomicultores, cultivando uma área total de 14.808 hectares, uma média de 26 hectares de macieiras por cada produtor. Na safra 2013/14, estima-se que o estado de Santa Catarina contribuiu com 48 % da área colhida, produzindo 46 % das maçãs brasileiras; enquanto o Rio Grande do Sul produziu 50 % do produto, em 47 % da área colhida total, conforme apresenta a tabela 1.

Estado	Área colhida	Quant. Produz.	Rend. Médio (Kg/área)
Santa Catarina	17.762	629.437	35.437
Rio Grande do Sul	17.433	690.422	39.604
Paraná	1.730	48.786	28.200
Outros estados	212	4.988	23.528
Brasil	37.137	1.373.633	126.769

Tabela 1. Área, produção e rendimento de maçã por estado – Brasil (2013/14). Fonte: Adaptado de CEPA, 2014.

A preocupação com a saúde e qualidade de vida tem se tornado estímulo para pesquisas na área de alimentos. O consumo de maçãs tem sido associado à prevenção de doenças crônicas, proteção do DNA, redução do risco de doenças cardiovasculares e câncer (OLIVEIRA et al., 2008). Múltiplos ensaios *invitro* apontam compostos com intensa atividade antioxidante nas maçãs, que podem ser importantes na prevenção de doenças crônicas.

Atualmente, as cultivares **Gala** e **Fuji**, com suas diversas mutações, são as mais produzidas e comercializadas; consequência da grande aceitação das características sensoriais como sabor e cor, além da facilidade de conservação frigorífica que estas cultivars oferecem. Estas duas cultivars constituem aproximadamente 95 % da produção brasileira e fazem parte do conjunto de maçãs mais importantes em termos mundiais (WOSIACKI et al, 2005).

A cultivar **Gala** apresenta suculência, gosto doce e média acidez. Tem excelente aparência com uma coloração vermelho rajada intensa e atraente no lado que recebe os raios ultravioletas do sol. O lado sombreado fica sem a coloração vermelha destacando a cor de fundo amarelo-esverdeada (EPAGRI, 2002). Sua colheita é realizada entre os meses de fevereiro e abril, sendo a maçã armazenada em câmaras com controle de temperatura, umidade, oxigênio e gás carbônico, sendo disponibilizada ao mercado consumidor durante todo o ano (FISHER, 2011).

A cultivar **Fuji**, apresenta tamanho médio a grande, com cor de fundo esverdeada, a qual se torna amarela à medida que ocorre sua maturação, opurê é aromático, firme, crocante, suculento e de sabor doce. Sua colheita ocorre em abril e é a mais resistente para frigoconservação (EPAGRI, 2002).

2.2 Purê de Maçã

De acordo com a legislação brasileira vigente (BRASIL, 2000), purê ou polpa de fruta é “produto não fermentado, não concentrado, não diluído, obtido de frutos polposos, através de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, proveniente da parte comestível do fruto, sendo que o teor mínimo de sólidos totais será estabelecido para cada purê de fruta específica”. Na legislação brasileira atual não há uma definição específica para purê de maçã, contudo de um ponto de vista físico, purês de fruta podem ser considerados dispersões concentradas de partículas insolúveis macios e deformáveis que são dispersas numa solução aquosa de açúcares, ácidos orgânicos e substâncias pécticas. As frutas destinadas à fabricação de purê devem ser sadias e maduras e não podem apresentar nenhum tipo de sujeira na casca nem ter sofrido ataques de insetos ou de parasitas (CEPEDA; GOMEZ, 2002).

Para a obtenção de purê de maçã, operações unitárias como seleção, lavagem, sanitização, trituração, além de tratamentos químicos (adição de açúcar, ácidos, gomas e uso de aditivos) são necessárias, dependendo do tipo de produto que está sendo processado (NOGUEIRA; WOSIACKI, 2012). Ainda assim, pesquisadores brasileiros como Wosiacki et al. (1989, 2002, 2005 e 2004) e Namiuchi et al. (1992) desenvolveram estudos que compreendem a melhoria de qualidade para o setor de cultivo e de industrialização da maçã; entretanto, pouco tem sido feito em relação ao aproveitamento das matérias sólidas, como o purê, bem como de outros resíduos da industrialização desta fruta, para fins de uso na alimentação humana. Estudos demonstram que os benefícios da ingestão de maçãs sobre a saúde humana são aumentados quando a fruta é consumida *in natura* ou inteira. As maçãs que ao final do processo de classificação não apresentam qualidade suficiente para serem vendidas *in natura*, são denominadas de maçãs de descarte comercial ou industrial. Estas frutas representam cerca de 30 % da produção nacional e possuem composição físico-química muito parecida com as frutas de mesa (NOGUEIRA; WOSIACKI, 2012).

Uma opção para otimização do consumo da fruta inteira é na forma de purê ou purê de maçã, que pode ser utilizado como um produto intermediário

para a produção de néctares, sucos com partículas sólidas, molho de maçã, comida de bebê e outros produtos conforme apresenta a figura 1.



Figura 1. Purê de Maçã. Fonte: Acervo do Autor

Cabe ressaltar que, aliado aos conhecimentos dos benefícios da fruta, uma ampliação no seu consumo, na forma de purê, pode gerar oportunidades relacionadas às inovações na cadeia produtiva da maçã e a consequente agregação de valor, podendo estar presente nas diferentes etapas da cadeia produtiva da mesma (CARVALHO; FERREIRA, 2001).

2.3 Escurecimento Enzimático

O desafio do processamento de frutas e hortaliças é a significativa susceptibilidade ao escurecimento enzimático. Esse ocorre principalmente após danos causados aos tecidos durante os processos de colheita e transporte, ou quando são expostos ao ar após terem sido cortados, fatiados ou triturados, para posterior processamento; esses processos permitem o contato entre a enzima e os substratos fenólicos que podem resultar na formação de compostos escuros (MDLULI, 2005). Nas maçãs, o escurecimento enzimático está relacionado à ação das enzimas polifenoloxidase (PFO) e peroxidases (PO), que utilizam compostos fenólicos como substratos e provocam alterações indesejáveis na cor, sabor e aroma dos vegetais (VALDERRAMA et al., 2001). Oliveira et al. (2008), em estudo sobre a polifenoloxidase em maçãs da cultivar **Gala**, mostraram que esta enzima está localizada em toda a região da fruta, porém de maneira não uniforme. De acordo com os autores, a ação mais intensa da polifenoloxidase encontra-se

mais próxima à epiderme e ao redor dos feixes vasculares. Em vista disso, outro fator de extrema relevância, quando se trata de escurecimento é que ao se triturar a fruta, as enzimas oxidativas ficam mais expostas diante do grande dano físico, além da facilidade do acesso ao oxigênio, um substrato do escurecimento.

A polifenoloxidase atua principalmente após a ocorrência de danos mecânicos, cortes ou outros tipos de injúrias à célula. A célula injuriada tem as paredes e membranas danificadas, comprometendo a separação física entre as enzimas, localizadas nos plastídeos, e os substratos fenólicos, presentes nos vacúolos, o que favorece a reação de escurecimento (LEE, 2000). Seu mecanismo geral de reação é apresentado na Figura 2.

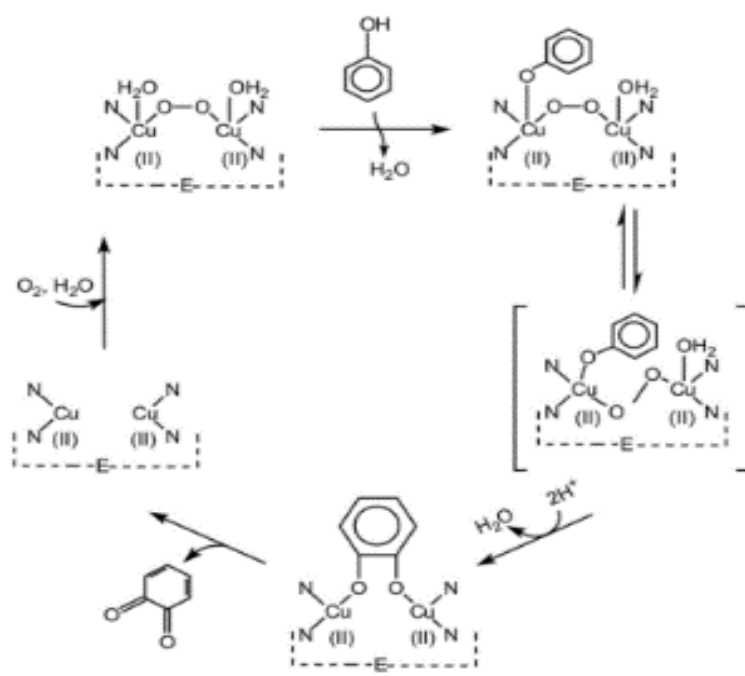


Figura2. Mecanismo geral de reação das polifenoloxidases. Fonte: Belitz e Grosch, 1997.

De acordo com Vámos-Vigyázó (1981) o pH ótimo para atividade da PFO encontra-se entre 4,0 e 7,0. A atividade enzimática apresenta um decréscimo para pH ácido devido às modificações das proteínas do estado nativo para o estado de desnaturação reversível (BURNETTE, 1977). A PFO é relevante em vegetais por influenciar no sabor, cor, odor e valor nutritivo por degradação oxidativa de diferentes compostos. Sua atividade pode variar em função da cultivar, estágio de maturação, espécie e condições de cultivo do alimento; de modo geral, sua atividade é mais intensa nos frutos mais jovens

(VAN LELYVELD et al., 1984).

De acordo com Chitarra e Chitarra(2005), na maçã, a peroxidase solúvel apresenta um pico de atividade aproximadamente na metade do processo de amaciamento relacionado ao amadurecimento, o que independe das condições de armazenamento e da taxa de amaciamento. O aumento de sua atividade pode estar associado com a biossíntese de compostos celulares em resposta a danos mecânicos nos tecidos, resistência às doenças e nos mecanismos de cura ou reparo de danos nos tecidos.

As PO apresentam diversas funções fisiológicas e, na forma de múltiplas iso-enzimas aniônicas ou catiônicas, atuam sobre diferentes substratos em reações como oxidação de fenólicos e carotenóides, degradação de auxinas, de clorofila e de ácido ascórbico, bem como na biossíntese da lignina. A sua atividade relaciona-se com modificações em atributos sensoriais como o escurecimento e aumenta significativamente após a colheita, quando uma gama de compostos tornam-se suscetíveis a sua ação (ZHANG et al., 2001).

Referencialmente nos Estados Unidos existem pesquisas em maçãs baseadas em modificações genéticas pela introdução de genes que bloqueiam a ação da PFO (redução de 76 % a 82 %) retardando, de forma eficaz, o escurecimento enzimático. Alguns estudos evidenciaram um leve escurecimento somente 24 horas após os frutos terem sido cortados (KENONG XU, 2013). Contudo, no Brasil, o controle do escurecimento enzimático está baseado exclusivamente através de métodos físicos e/ou químicos, visto que pesquisas sobre modificações genéticas ainda estão em fase inicial. Enquanto os métodos físicos incluem redução de temperatura, inativação térmica da enzima, proteção do produto contra oxigênio, desidratação, uso de atmosfera modificada e embalagens ativas, os métodos químicos envolvem o uso de compostos antioxidantes que inibem a ação da enzima (OLIVEIRA, 2008).

2.4 Agentes Antioxidantes

Em razão de sua natureza biológica, alterações sensoriais acontecem naturalmente no alimento com o tempo de estocagem e ou produção. Durante a produção, processamento, distribuição e armazenamento ocorrem várias reações de deterioração envolvendo micro-organismos e processos químicos.

As diversas etapas de processamento de alimentos, associadas às necessidades de aumentar o período de armazenamento, resultam na vulnerabilidade à deterioração oxidativa; portanto, a utilização de substâncias químicas capazes de oferecer proteção contra a oxidação é necessária (ARAÚJO, 2008).

A efetividade da utilização do antioxidante depende da estrutura química, modo de ação e função no alimento. Na seleção de antioxidantes, são desejáveis as seguintes propriedades: eficácia em baixas concentrações (0,001 % a 0,010 %); pouca ou nenhuma influência nas características sensoriais do alimento; ação com o alimento e fácil aplicação e estabilidade nas condições de processo e armazenamento. Além disso, esses inibidores são limitados por fatores tais como a sua toxicidade, efeito sobre o sabor, aroma e textura do produto e por razões econômicas (IYENGAR; MCEVILLY, 1992).

A utilização de coadjuvantes pode reduzir ou evitar o escurecimento dos tecidos e demais efeitos das reações oxidativas. Os agentes antioxidantes atuam como doadores de hidrogênio, evitando a oxidação dos compostos fenólicos presentes no tecido vegetal.

O ácido ascórbico é reconhecido por sua ação redutora e contribuição nutricional (vitamina C). Esse ácido e seus vários sais neutros são os principais antioxidantes para o uso em frutas (WILEY, 1994). Atua sequestrando o cobre, grupo prostético da polifenoloxidase, e reduzindo quinonas de volta a fenóis, antes de formarem pigmentos escuros (SAPERS; MILLER, 1998). De forma semelhante, o ácido eritórbico, um epímero de ácido L-ascórbico, é um eficiente antioxidante não tóxico; possui propriedades químicas muito semelhantes ao ácido ascórbico e é amplamente usado como um antioxidante em produtos alimentares processados (SALUSJÄRVI et al., 2004). A estrutura química do ácido ascórbico e eritórbico é apresentada na figura 3.

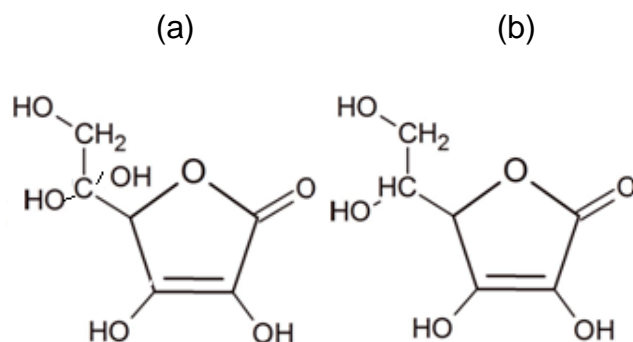


Figura3. Estrutura química do (a) ácido ascórbico e (b) eritórbrico. Fonte: ARAÚJO, 2008.

O ácido cítrico é um ácido orgânico naturalmente presente em frutas, atua sobre polifenoloxidasas e peroxidases, prevenindo o escurecimento enzimático, sendo também utilizado para potencializar (ação sinergista) outros antioxidantes como o ácido ascórbico (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Eritorbato de sódio é um novo tipo de antioxidante, que atua como conservante mediante a inibição dos efeitos do oxigênio nos alimentos. Esse antioxidante pode manter a cor e sabor natural dos alimentos, além de prolongar a vida útil, sem causar nenhum tipo de efeito secundário. É utilizado principalmente na indústria alimentícia (CIMPA, 2014). O ácido kójico inibe a ação da tirosinase como quelante de íons e promove a diminuição da eumelanina e seu monômero precursor (MARCUSI, 2012). Estudos recentes avaliaram a ação desse antioxidante na prevenção do escurecimento enzimático de vegetais como maçã, batata e frutos do mar (RESCIGNO et al., 2002).

Segundo Aguayo (2006), os sais de cálcio, sobretudo de CaCl_2 , são utilizados para prolongar a rigidez em uma grande cultivar de frutas inteiras, descascadas, e minimamente processadas. Combinado com o uso de antioxidantes, o cloreto de cálcio auxilia na redução do escurecimento enzimático, visto que desempenha um papel central na sinalização celular relacionada à atividade do oxigênio (BHATTACHARJE, 2005). A imersão de frutas em cloreto de cálcio tem sido utilizada para melhorar a estabilidade e a manutenção da integridade da membrana e consequentemente reduzindo a senescência (PICCHIONI et al., 1996). De acordo com as diferenças no mecanismo de ação do antioxidante é possível a combinação de vários agentes simultaneamente, o que facilita a utilização da sua ação química e aumenta a sua atividade em comparação com aqueles utilizados

individualmente (MCEVILLY; IYENGAR, 1992).

2.5 Ação dos agentes antioxidantes

Segundo estudo realizado por CORRÊA et al.(2015), o tempo e a área de contato da fruta com a solução antioxidante influenciam diretamente sua efetividade. Para isso, os autores avaliaram o comportamento das cultivares de maçã **Fuji** e **Galafrente** às diferentes áreas de contato com a solução antioxidante, a fim de definir o tamanho da fatia de fruta em que o tratamento apresentaria melhor resposta; bem como identificar o melhor tempo de contato com a solução antioxidante na redução do escurecimento das frutas, após a trituração das mesmas, no formato de purê. Para tal, os autores variaram a área da fatia da fruta em 4, 8, 12 e 16 pedaços de maçãs cortadas longitudinalmente e tempo de contato com a solução antioxidante que variou de 5, 10 e 15 minutos. Os autores concluíram que a maçã cortada em 16 fatias, com o tempo de contato de 10 minutos foi mais efetiva na redução do escurecimento enzimático através das respostas de análises de cor dos purês de maçã. Além disso, a concentração efetiva contra o escurecimento de fatias de maçãs foram estudados por RIBEIRO et al.(2015), nos quais os autores verificaram uma maior eficiência dos antioxidantes Eritorbato de Sódio na concentração de 4%, Ácido Eritórbico na concentração de 3% e Ácido Kóico 0,07%, que foi utilizada como referência nesse estudo.

2.6 Ação das micro-ondas

O processo de pré-aquecimento, principalmente com a finalidade de influenciar a ação enzimática, modifica o tecido das frutas e inativa polifenoloxidasas e peroxidases, enzimas responsáveis pelo escurecimento. A tecnologia da utilização de micro-ondas, a fim de atingir uma pasteurização suave e em tempos reduzidos nos produtos à base de frutas, é uma alternativa relevante. Outra aplicação de tecnologia de micro-ondas é o pré-processamento da maçã triturada para aumentar a produção de suco na elaboração de sidra (GERARD; ROBERTS, 2004). Mais recentemente Oszmianski et al. (2008) apresentaram um trabalho sobre a influência de micro-

ondase pré-aquecimento nas cultivares de maçã **Shampion** e **Idared**na preparação de purê de maçã pasteurizado. Contudo, existem poucas pesquisas relacionando o efeito da utilização de micro-ondas na sobrevivência de patógenos em frutas minimamente processadas.

2.7 Características físico-químicas da maçã *in natura*

2.7.1 Sólidos Solúveis

A composição química da maçã depende de fatores naturais relacionados à localização dos pomares, tais como solo, clima, além de fatores agronômicos (cultivares, tratos culturais, adubações, tratamentos fitossanitários, épocas de colheita). Tais fatores podem afetar os teores de umidade, sólidos solúveis (açúcares e ácidos orgânicos), compostos fenólicos, minerais e vitaminas (RIZZON et al., 2005).

Em maçã, os sólidos solúveis são compostos de açúcares simples, como frutose, glicose e sacarose, podendo alcançar até 14 % do peso da fruta em base úmida. A frutose, na maioria das vezes, está presente em maiores proporções, o que reflete a um apelo funcional na elaboração de produtos derivados desta fruta. O ácido málico é o ácido orgânico predominante na maçã por determinação gênica (95 % do total) seguindo-se o ácido cítrico e outros de menor importância ocorrendo somente em poucas quantidades (EPAGRI, 2002).

2.7.2 Cor

A aparência é o fator primordial para os consumidores na procura de alimentos frescos. Atributos como uniformidade de cor, brilho e ausência de defeitos e doenças são os mais relevantes na escolha do produto. As cores das frutas têm forte impacto na decisão de compra, sendo um indicador da qualidade alimentar e de maturação do produto. (AKED, 2002).

Frutas e hortaliças submetidas a algum tipo de processamento podem receber um acompanhamento visual, através de técnicas espectrométricas, como a medida de parâmetros de cor em colorímetros e técnicas de análise de imagem, as quais podem detectar defeitos e mudanças na cor superficial (AKED, 2002).

A avaliação da coloração de frutas íntegras ou minimamente processadas pode ser realizada através de indicadores físicos, como o modelo $L^*a^*b^*$. Este modelo é um padrão internacional desenvolvido pela *Commission Internationale d'Eclairage* (CIE) em 1976, para avaliação da cor de produtos alimentícios. Através deste método obtemos os valores de L^* , que indicam a luminosidade da amostra ($L^* = 0$ = preto e $L^* = 100$ = branco); de a^* (varia do $+a^*$ = vermelho e $-a^*$ = verde) e de b^* ($+b^*$ = amarelo e $-b^*$ = azul) (YAM; PAPADAKIS, 2004).

2.7.3 Acidez Titulável

As características físicas, como a massa, comprimento, diâmetro transversal e coloração da epiderme influenciam na aceitabilidade do fruto pelo consumidor e o rendimento industrial, ao passo que as características intrínsecas como os teores de sólidos solúveis (SS), os quais representam indiretamente os açúcares e da acidez titulável (AT), bem como o balanço entre os mesmos, são indicadores das características sensoriais, importantes tanto na industrialização quanto no consumo dos frutos *in natura* (ALVARENGA; FORTES, 1985). Assim, a quantificação de açúcares simples (frutose, glicose e sacarose), a acidez total titulável e os compostos fenólicos totais, representam uma importante fonte de dados na caracterização do purê da maçã. A partir destes atributos, é possível definir seu reaproveitamento, bem como utilizá-los como marcadores de qualidade na classificação das amostras de maçã com relação ao seu potencial de industrialização (FERTONANI et al., 2006).

2.7.4 Compostos Fenólicos Totais

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários encontrados nos tecidos e exercem diferentes funções, em especial, de defesa. Em plantas são essenciais para o crescimento e reprodução dos vegetais, além de atuarem como agente anti-patogênico e contribuírem na pigmentação. Em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (ANGELO; JORGE, 2007).

Além de suas conhecidas funções nos vegetais, pesquisas têm demonstrado o efeito benéfico de compostos fenólicos de diferentes fontes para a saúde humana, que decorre de sua ação antioxidante para auxiliar na

prevenção de danos celulares ocasionados por processos oxidativos precursores de doenças crônicas e degenerativas (WALTER; MARCHEZAN; AVILAN, 2008).

2.7.5 Capacidade Antioxidante

A avaliação da capacidade antioxidante deve-se à ação cumulativa de todos os antioxidantes presentes num extrato ou amostra biológica. Esse parâmetro pode ser determinado em ensaios de laboratório dependendo do substrato utilizado, do solvente e da técnica de extração utilizada (NASCIMENTO, 2010).

A atividade antioxidante reflete alterações no estresse oxidativo *in vivo*, fornecendo a elucidação de fatores fisiológicos e nutricionais importantes, como também informações sobre absorção e biodisponibilidade de compostos antioxidantes (GHISELLI et al., 2000). Pesquisas que correlacionam à ação de alimentos antioxidantes com a prevenção de certas doenças têm conduzido ao desenvolvimento de grande número de métodos para sua quantificação.

2.8. Avaliações Microbiológicas

Segundo Aked (2002), a aparência, textura, sabor e aroma são os atributos-chave para a aceitação dos produtos consumidos *in natura* ou processados. Ainda assim as propriedades nutricionais e os aspectos de segurança do produto também são considerados quando se analisa a qualidade de alimentos.

A qualidade microbiológica dos alimentos processados está relacionada à presença de micro-organismos deteriorantes e/ou causadores de infecções ou intoxicações que poderão influenciar nas características sensoriais do produto durante sua vida útil (RAHMAN et al., 2011). Contudo, a maior preocupação está relacionada à segurança, não apresentando contaminação por agentes químicos, físicos e microbiológicos em concentrações prejudiciais à saúde.

A qualidade do purê está relacionada à preservação dos nutrientes e às suas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais, que devem ser próximas da fruta *in natura*, de forma a atender as exigências do consumidor e da legislação vigente. Todos os alimentos, independentemente

sua origem, podem apresentar uma microbiota natural extremamente variada, concentrada principalmente na região superficial, embora os tecidos internos, tanto de vegetais como de animais, possam eventualmente, apresentar formas microbianas viáveis (ABREU et al., 2003).

O manuseio do produto durante o processamento favorece a contaminação por micro-organismos e a liberação de exsudados celulares disponibiliza nutrientes para a atividade microbiana. Frutos que apresentam condições relativamente ácidas podem suprimir o crescimento bacteriano, mas podem ser contaminadas por fungos (AKED, 2002).

2.9. Análise sensorial

Segundo Queiroz e Treptow (2006), a análise sensorial é insubstituível no desenvolvimento de especificações para definir propriedades efetivamente subjetivas e que são fundamentais para a aceitação e preferência do consumidor. Assim, torna-se indispensável na indústria de alimentos para o desenvolvimento de novos produtos, modificação de produtos já existentes, otimização de processos, redução de custos e para pesquisa de mercado (LAVILLA et al., 1999). A qualidade sensorial de alimentos também depende do sabor, que, em maçãs, é determinado pela relação acidez/açúcar e textura.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material experimental

Foram utilizadas maçãs (*Malus domestica*, Borkh) das cultivares **Fujie Gala**, pertencentes à safra 2013-2014, produzidas pela empresa Rasip Agro Pastoril S/A, no município de Vacaria – RS, colhidas quando alcançaram seu ponto de maturação comercial: maçã da cultivar **Gala** colhida no final de fevereiro e a maçã da cultivar **Fuji** na segunda quinzena de março. No momento da colheita as maçãs foram colocadas em sacolas plásticas (sacolas de colheita), para serem transportadas até os bins (caixas com capacidade de ± 350 Kg). Na planta de processamento, as maçãs passam por uma pré-seleção (retirada de frutas estragadas e restos vegetativos de galhos e folhas), para serem separadas por tamanho. Dentro dos bins, em câmeras herméticas, é aplicado 1-metilciclopropeno (utilizado para inibir a ação do etileno,

retardando o processo de amadurecimento); depois disso, passam por uma nova seleção (cor, tamanho e injúrias) para serem armazenados nas caixas de ± 18 Kg (poucos dias antes da comercialização). As frutas foram transportadas, por via rodoviária, em caminhão baú, sem exposição direta à luz solar, por aproximadamente 6 horas, até a unidade da Embrapa Clima Temperado (Pelotas-RS), onde foram armazenadas em câmara fria a 1 °C e 90 %–95 % umidade relativa (UR) até serem analisadas. Os trabalhos foram realizados no Núcleo de Alimentos da Embrapa Clima Temperado e no Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial localizado na Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (UFPel).

O diagrama de fluxo apresentado na Figura 4 mostra como foi realizado o planejamento experimental para seleção das condições ótimas.

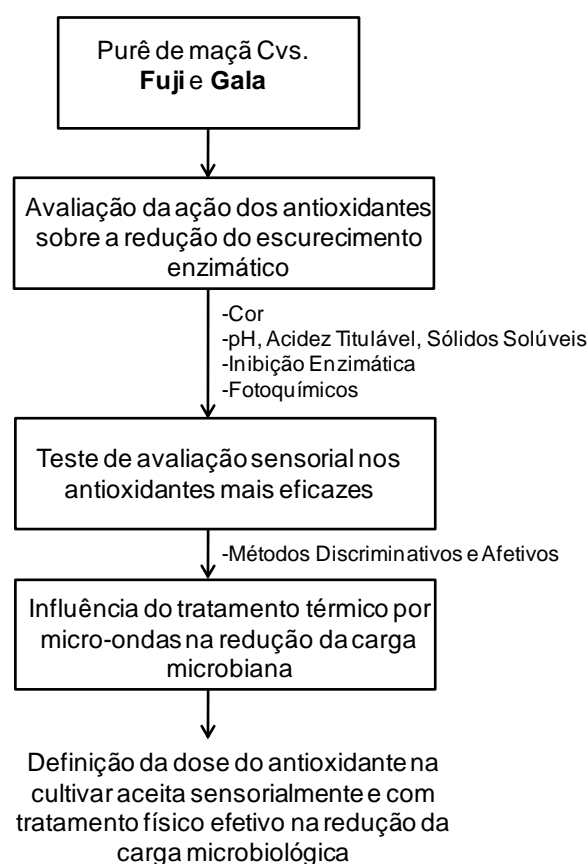


Figura4. Diagrama de fluxo das etapas do delineamento utilizado na definição do tratamento mais eficaz para manutenção da cor do purê de maçã, aceitação sensorial e efetividade do micro-ondas na redução da carga microbiana.

3.2 Métodos

3.2.1 Seleção e sanitização das frutas

As maçãs *in natura* foram selecionadas aleatoriamente de acordo com tamanho e estado de maturação e posteriormente sanitizadas por imersão em solução resfriada (5 °C a 8 °C) de hipoclorito de sódio 200 ppm e pH 6,5 durante 10 minutos. Em seguida, foram cortadas em oito fatias longitudinais com casca (no formato de gomos), com cortador de aço inox, de forma semelhante à ilustrada na Figura 5. Após, cada fatia assim obtida foi cortada ao meio, longitudinalmente, com faca, resultando 16 fatias de cada maçã.



Figura 5. Cortador radial de aço inox utilizado no corte das maçãs. Fonte: Acervo do Autor.

3.2.2 Tratamentos

3.2.2.1 Purê de maçã tratada com antioxidantes

Os tratamentos, definidos a partir de ensaios preliminares, consistiram na imersão de maçãs fatiadas em solução de Eritorbato de Sódio (5 %, 7 % e 9 %), Ácido Kójico (0,07 %, 0,09 % e 1,1 %), Ácido Eritórbico (3 %, 5 % e 7 %) e Ácido Ascórbico 0,5 % combinado com três diferentes concentrações de Ácido Cítrico (0,1 %, 0,3 %, e 0,5 %), na proporção em massa de 2:1 (solução:fruta), por 10 min (CORRÊA et al., 2015). Em todos os tratamentos foi adicionado CaCl_2 1 % para reduzir o escurecimento da polpa (MELO et al., 2006).

Ao final da aplicação dos antioxidantes as fatias de maçã foram retiradas

das soluções e colocadas em escuradores por 5 minutos para retirar o excesso de solução antioxidante. A seguir as fatias de maçã foram trituradas em liquidificador por 30 s para obtenção do purê, o qual foi acondicionado em frascos âmbar e mantido sob refrigeração (3 °C – 4 °C).

O controle experimental consistiu em maçã tratada exclusivamente com CaCl_2 1 %. A obtenção de purê de maçã tratada com antioxidantes é ilustrada na figura 7. As análises foram realizadas na instalação do experimento (0 h) e após 24 h, 72 h e 96 h.

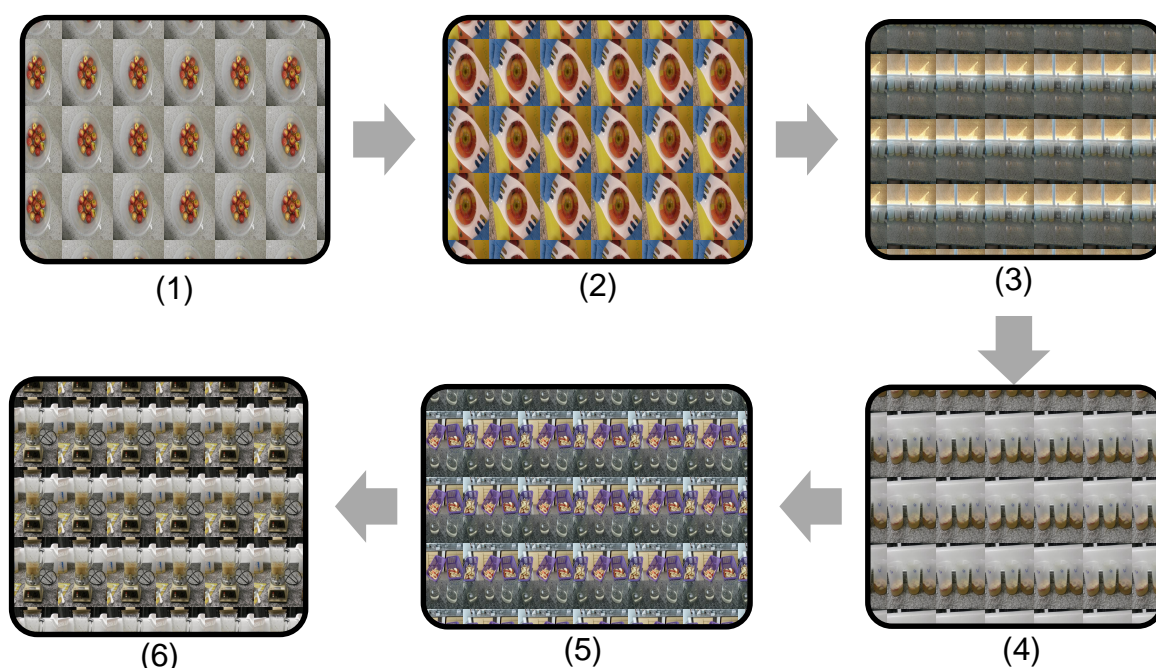


Figura 6. Obtenção de purê de maçã tratada com antioxidantes: (1) sanitização; (2) fatiamento; (3) preparação de soluções antioxidantes; (4) imersão de fatias de maçã em solução antioxidante; (5) drenagem de excesso de solução antioxidante e (6) trituração de fatias de maçã para obtenção de purê.

3.2.2.2 Purê de maçã tratado com micro-ondas experimental.

Amostras de purê de maçã das cultivares **Fuji** e **Gala** foram tratadas com micro-ondas, em equipamento experimental (*Multiwave 3000 - Microwave Platform System - Anton Paar, Graz/Áustria*) (Figura 8).

Para avaliar o efeito do micro-ondas sobre a atividade enzimática (polifenoloxidas e peroxidases), amostras de purê de maçã (20 g), imediatamente após a obtenção das mesmas, foram submetidas a micro-ondas,

em dois níveis de potência (600 W e 1400 W), em três tempos (30 s, 60 s e 120 s) e três temperaturas (50 °C, 60 °C e 70 °C), sendo as atividades enzimáticas determinadas imediatamente após estes tratamentos.

Para avaliar o efeito de micro-ondas sobre a microbiota presente, amostras de purê de maçã (30 g) foram submetidas a micro-ondas na potência de 1400 W, em dois tempos (30 s e 60 s) e a temperatura de 70 °C.

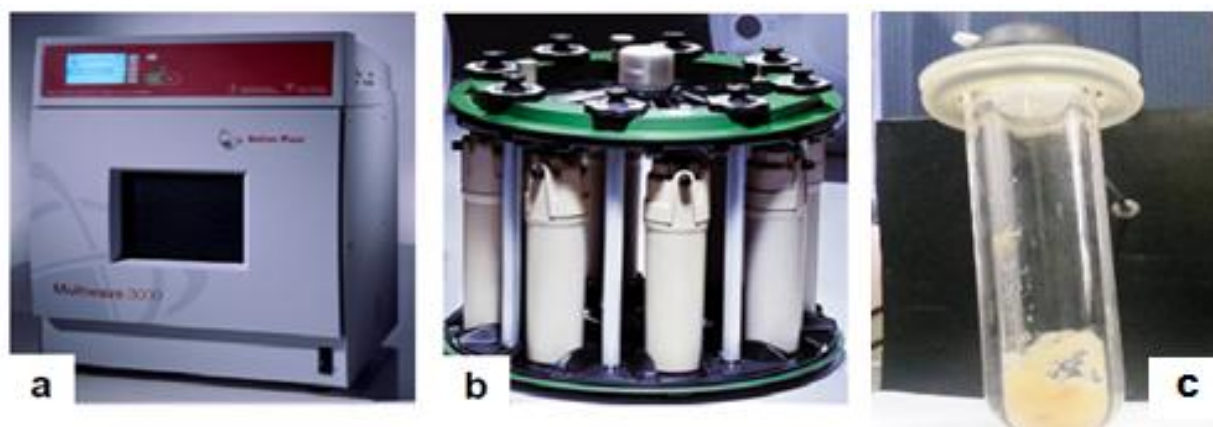


Figura 7. Equipamento para tratamento com micro-ondas: (a) forno de micro-ondas experimental *Multiwave 3000*[®]; (b) rotor equipado com os frascos de quartzo, (c) purê de maçã acondicionado nos frascos de quartzo.

3.2.3 Análises físico-químicas

3.2.3.1 Cor

A cor dos purês foi mensurada com colorímetro Minolta CR-400, sistema de leitura CIE $L^*a^*b^*$, proposto pela *Comissão Internacional de l'Eclairage* (CIE), onde L^* expressa a luminosidade ($L^*=0$ preto e $L^*=100$ branco) e a^* e b^* são responsáveis pela cromaticidade ($+a^*$ =vermelho e $-a^*$ =verde; $+b^*$ =amarelo e $-b^*$ =azul). Com esses parâmetros, foram avaliadas as coordenadas cilíndricas Croma e ângulo Hue (BIBLE; SINGHA, 1993) e índice de escurecimento (IE) calculado de acordo com Fontes et al. (2008), segundo as equações:

$$Hue = tg^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \text{Equação 1;}$$

$$IE = \left(\frac{(x-0.31)}{0.172} \times 100 \right) \text{Equação 2; onde}$$

$$x = \left(\frac{(a^*+1.75L)}{5.645L+(a^*-3.02b^*)} \right) \text{Equação 3 e}$$

$$Croma = \sqrt{(a^* + b^*)} \text{Equação 4.}$$

3.2.3.2 Acidez titulável

Para análise de acidez titulável foram utilizados 10 g de purê da fruta adicionadas a 90mL de água destilada. Após, foi feita a titulação da amostra com o auxílio de uma bureta digital Brand® contendo solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 M até atingir o ponto de viragem no pH 8,1. A acidez titulável foi expressa em gramas de ácido cítrico 100 g⁻¹ de purê (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

3.2.3.3 Potencial hidrogeniônico

Determinado através de método eletrométrico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008), em potenciômetro (peagâmetro) da marca Quimis modelo Q400A.

3.2.3.4 Sólidos solúveis

Obtido porrefratômetria (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008), em refratômetro digital, marca ATAGO, modelo PAL-1.O resultado foi expresso em °Brix.

3.2.3.5 Fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram quantificados utilizando o reagente *Folin-Ciocalteau* pelo protocolo descrito por Swain e Hillis (1959), adaptado a micro volumes. Para extração foram homogeneizadas 2,5 g de amostra (maçã ou purê de maçã) triturada em 10 mL de metanol (P.A.) e homogeneizadas com o auxílio de um homogeneizador (*ultra-turrax* IKA, Artur Nogueira-SP) por aproximadamente um minuto, até a amostra ficar completamente homogeneizada. Após, foi centrifugada a 1878G em centrífuga EPPENDORF – *Centrifuge* 5810 R, em temperatura de 1 °C por 30 minutos. O sobrenadante foi coletado e armazenado em tubos *ependorf*sà temperatura de -18 °C. Para quantificação dos compostos fenólicos totais, foi utilizado 35 µL do sobrenadante (diluído 2,57 vezes em metanol P.A.), 180 µL de água ultrapura e 35 µL do reagente *Folin-Ciocalteau* (0,25 M). Esta reação foi neutralizada com 50 µL de solução de Na₂CO₃ a 1 N após três minutos. A leitura da absorbância foi realizada em leitora de microplacas, utilizando placas de poliestireno (GreinerBio-One^R) da marca MOLECULAR DEVICES – Spectramax 190em

comprimento de onda de 725 nm. Ácido clorogênico foi utilizado como padrão para construção da curva de calibração e o teor de compostos fenólicos totais foi expresso em mg de ácido clorogênico. 100^{-1} g de fruta fresca.

3.2.3.6 Capacidade antioxidante

Foi determinada através de espectrofotometria, segundo metodologia adaptada de Brand-Williams et al. (1995). Este método é baseado na captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1- picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm. A extração foi igual àquela utilizada para os compostos fenólicos totais, de onde foram utilizados 40 μ L do sobrenadante (diluído 5,25 vezes em metanol P.A.) e 260 μ L de DPPH diluído. Após 24 horas foi realizada a leitura de absorbância a 515 nm em espectrofotômetro (MOLECULAR DEVICES – Spectramax 190) utilizando microplaca(poliestirenomarca, GreinerBio-One^R). Os resultados foram expressos em μ g Trolox. 100 g^{-1} de fruta fresca.

3.2.3.7 Atividade enzimática de polifenoloxidase e peroxidase

A determinação da atividade enzimática da PFO e PO foi realizada por método colorimétrico, de acordo com protocolo adaptado de Cano et al., (1997), Toralles et al., (2005) e Oliveira et al., (2007). O extrato foi preparado a partir de 2,5 gramas da amostra fresca diluída em 10 mL de tampão fosfato pH 6,0, sendo posteriormente triturada com auxílio de *ultra turrax* marca Marconi, modelo MA 102. O extrato foi centrifugado a 1878 G em centrífuga EPPENDORF – *Centrifuge* 5810 R e o sobrenadante coletado para análise enzimática.

Na determinação da atividade enzimática da PFO foi utilizada leitora de microplacas da marca MOLECULAR DEVICES – Spectramax 190, microplaca (poliestirenomarca GreinerBio-One^R). A reação enzimática consistiu em 55 μ L de extrato enzimático e 220 μ L de mistura composta (1,5 mL de tampão fosfato pH 6,5 + 0,5 mL de catecol na concentração de 0,05 M e 2,0 mL de água), sendo a microplaca levada para incubação a 37 °C com leitura a 425 nm nos tempos zero e 10 minutos.

Na determinação da atividade enzimática de PO foram adicionados em

cada célula da microplaca 45 µL de extrato enzimático e 230 µL de mistura composta (1,5 mL do tampão pH 6,5 + 2,0 mL de água destilada + 1,0 mL de peróxido de hidrogênio na concentração de 0,08 % e 0,5 mL de guaiacol na concentração de 1 %). A leitura foi realizada a 37 °C, a 470 nm, no tempo zero e após 10 minutos. A atividade inibitória das enzimas foi calculada com base na porcentagem de inibição de acordo com o descrito por YaguangLuo (2011):

$$\%inibição = \frac{Abs (PFO ou PO)Controle - Abs (PFO ou PO)Tratamento}{Abs (PFO ou PO)Controle} \quad \text{Equação 5}$$

3.2.3.8 Minerais

Os purês (tratamentos e controle) foram liofilizados (Liobras, modelo L101) e trituradas em moinho de facas (Willey). A digestão e determinação do perfil mineral dos purês foram realizados na Central Analítica da Embrapa Clima Temperado e foi baseada no método descrito por Silva (2009). Para o preparo da amostra, foram transferidos 250 mg de purê liofilizados e triturados para tubos de quartzo, onde foram adicionados 5 mL de ácido nítrico (65 %) e 1 mL de peróxido de hidrogênio (29 %). O processo de digestão ocorreu em forno de micro-ondas industrial (Multiwave 3000, Anton Paar) com capacidade para 46 tubos de quartzo. Após digestão, o volume obtido foi diluído e aferido com água deionizada em balão de 25 mL. A digestão foi realizada em duplicata para cada uma das amostras. A análise dos minerais foi realizada por espectrometria de absorção atômica (Varian, modelo AA 240 FS). Para a calibração do equipamento, foram realizadas diluições da solução padrão, contendo os seguintes minerais: cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), ferro (Fe), cobre (Cu), zinco (Zn) e manganês (Mn). Os intervalos para a construção da curva de calibração foram de 0 mg L⁻¹ a 8.000 mg L⁻¹ para macronutrientes e de 0 mg L⁻¹ a 5,0 mg L⁻¹ para micronutrientes. A concentração de fósforo (P) foi obtida através da leitura em espectrofotômetro UV-Visível a 420 nm. Todas as amostras foram analisadas em duplicata e os resultados expressos em miligramas de mineral por 100 g de amostra (base seca).

3.2.4 Análise sensorial

Os testes foram realizados somente com os antioxidantes Eritorbato de Sódio 7 % e Ácido Eritórbico 5 %, visto que esses proporcionaram os melhores resultados nas análises físico-químicas e bioquímicas.

Para formação da equipe de avaliação sensorial dos purês de maçã das cultivares **Fuji** e **Gala**, foi distribuída uma ficha convite para os funcionários e bolsistas da Embrapa Clima Temperado; sendo priorizados aqueles que já possuíam experiências anteriores em análise sensorial.

Para a realização dos testes foi solicitado ao comitê de ética da Universidade Federal de Pelotas a aprovação do projeto de código CAAE: 49355915.5.0000.5317, conforme o apêndice A.

Os métodos sensoriais utilizados foram os discriminativos, que estabelecem diferenças quantitativa e/ou qualitativa entre as amostras e o método subjetivo que expressam a opinião pessoal do provador.

No teste duo-trio foram fornecidas três amostras de purê de maçã ao provador: uma amostra tratada quimicamente e duas amostras sem tratamento, considerado uma como o padrão. Foi solicitado ao julgador verificar qual a amostra apresentava sabor igual ao padrão. Participaram 50 provadores, obtendo-se 25 respostas para cada tratamento nas duas cultivares, separadamente.

O segundo teste foi o de comparação pareada na qual os provadores receberam duas amostras codificadas (purê de maçã **Gala** e de **Fuji** tratadas com os antioxidantes), conforme citado acima, e foram orientados a responder qual a amostra que apresentava melhor sabor.

Na terceira parte dos testes, após a definição do melhor antioxidante, os participantes receberam duas amostras codificadas (purê de maçã da cultivar **Fuji** e da **Gala**, tratadas com Eritorbato de Sódio 7 %) para avaliar o nível de preferência entre as cultivares frente a ação do antioxidante. Esse foi verificado através de uma escala hedônica de nove pontos que variou de “gostei extremamente” até “desgostei extremamente”. Estas avaliações sensoriais foram realizadas no laboratório do Núcleo de Alimentos da Embrapa Clima Temperado (QUEIROZ; TREPTOW, 2006).

3.2.5 Análise microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas em purê de maçã **Fuji**, antes e após tratamento com micro-ondas experimental.

Como controle experimental empregou-se purê de maçã **Fuji** autoclavado (121 °C por 15 min), purê de maçã **Fuji** tratada com eritorbato de sódio 7 % em maçã *in natura* após a sanitização.

Foi investigada a presença de bactérias da família Enterobacteriaceae, como os gêneros *Escherichia*, *Salmonellae* *Shigella* entre outras enterobactérias, juntamente com o grupo dos coliformes totais, dos fungos filamentosos e leveduras, aeróbios mesófilos, além da presença de *Pseudomonas.sp.* Para diluição das amostras foram utilizados 25 g de purê de maçã da cultivar **Fuji** e 225 mL de água estéril. A mistura de amostra e água estéril foi encaminhada para homogeneizador (BagMixer®) por 60 s, em velocidade reduzida para não danificar as células microbianas que pudessem existir. A diluição das amostras para avaliação dos gêneros *Salmonella* e *Shigella* foram realizadas da mesma forma descrita anteriormente, porém nestes casos ao invés de água estéril foi utilizado caldo lactosado.

Na identificação dos fungos filamentosos e leveduras, o plaqueamento foi feito em profundidade com 1 mL de amostra diluída. Sobre estas amostras foram adicionados cerca de 20 mL do meio ágar batata dextrose (BDA), previamente fundido e resfriado a 44 °C – 46 °C. Logo, estas placas foram homogeneizadas com movimentos suaves em forma de oito e deixadas solidificar em temperatura ambiente. As placas foram incubadas em estufa a 25 °C por um período de 3 dias a 5 dias e os resultados finais expressos em unidades formadoras de colônia por grama de amostra (UFC.g⁻¹ de amostra).

Para a identificação da presença de coliformes totais e *Escherichia coli* foi utilizada a técnica de contagem em placas com meio de cultura seletivo (Agar Chromocult – Merck®). O plaqueamento das amostras em placas de Petri foi feito de forma automatizada (*SpiralPlater System Autoplate 4000*®) e feito em superfície. As placas de Petri foram adicionados aproximadamente 20 mL de ágar Chromocult e após a solidificação deste meio, foi realizado o plaqueamento de 0,1 mL das amostras diluídas. Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa a 37 °C por 24 horas em posição invertida. A

interpretação dos resultados finais foi feita conforme as recomendações do fabricante do ágar Chromocult (Merck®): a) colônias de coloração rósea representam presença de coliformes totais na amostra; b) colônias roxas azuladas representam presença de *Escherichia coli* (coliformes fecais) e c) colônias amareladas demonstram presença de outras Enterobacterias. Caso fosse detectada a presença de *Escherichia coli*, seria necessário realizar a verificação deste resultado através do reativo Kovacs.

Para identificação do gênero *Salmonella*, as amostras foram diluídas com 25 g de purê de maçã e 225 mL de caldo lactosado em homogeneizador (BegMixer®). Logo, as amostras foram enriquecidas em estufa a 37 °C por 24 horas. A detecção deste patógeno, que causa infecção alimentar, foi feita através do teste 1,2 – *Test* da (Biocontrol®), um método rápido e qualitativo para detecção de *Salmonella* em alimentos. Na primeira etapa do teste 1,2 – *Test*, foi adicionada a solução 1 (solução de iodo – iodeto) à câmara de inoculação. No transcorrer, foram transferidos 0,1 mL da amostra diluída enriquecida para câmara de inoculação do 1,2 – *Test*. E, por fim, foi feita a adição do reagente 2 (anticorpo) no gel de imobilidade e a incubação do *Teste* 1,2 – *Test* a 37 °C por 14 a 30 horas. Os resultados finais foram expressos em presença ou ausência de *Salmonella* em 25 g de produto: a) o resultado é positivo quando ocorre a presença de banda em forma de U e b) negativo quando não ocorre a presença de banda em forma de “U”.

Na detecção do gênero *Shigella*, que causa infecção alimentar, foram diluídas 25 g de purê de maçã com 225 mL de caldo lactosado em homogeneizador BegMixer®, seguido do enriquecimento das amostras em estufa a 37 °C por 24 horas. Nas placas de Petri foram adicionados aproximadamente 20 mL de ágar SS (*Salmonella–Shigella*) e após a solidificação deste meio foi realizado o plaqueamento de 0,1 mL das amostras diluídas. Posteriormente as placas foram incubadas em estufa a 37 °C por 24 horas em posição invertida. Os resultados finais foram expressos em Unidades Formadoras de Colônia por grama (UFC.g⁻¹) de amostra. Estas análises microbiológicas visam à identificação da microbiota bacteriana e fúngica presente nas amostras após o tratamento térmico em micro-ondas.

3.6 Análise estatística

Os valores atípicos (*outliers*) foram identificados e *studentizado* externamente (*RStudent*) versus valores preditos (variável Y). A partir do *RStudent*, valores que se encontravam fora do intervalo -2 a 2 foram considerados *outliers* e suas observações correspondentes foram removidas do banco de dados (ROUSSEEUW; LEROY, 1987; BARNETTELEWIS, 1994). Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley; e, a independência dos resíduos por análise gráfica. Os dados foram submetidos à análise de variância através do Teste F ($p \leq 0,05$). Constatando-se significância estatística, os efeitos antioxidantes e de doses foram comparados pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) e os períodos de armazenamento por modelos de intervalo de confiança. Essas análises foram realizadas pelo programa SAS Institute, 2002.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Características físico-químicas

Foram observadas interações significativas duplas entre fator antioxidante e dose e entre antioxidante/dose e períodos de armazenamento para todas as variáveis analisadas (Tab. 2 e 3 e Fig. 10-15). Para a interação dupla entre os fatores antioxidante e dose, na variável L^* , ao realizar a comparação entre os antioxidantes nas doses, na cultivar **Fuji**, somente na dose máxima ocorreu diferença entre os antioxidantes ácido kójico (AK) e ácido ascórbico (AA) + ácido cítrico (AC). Porém esse comportamento não foi verificado para a cultivar **Gala**, pois no tratamento com eritorbato de sódio (ES) somente na dose máxima não verificou-se diferença estatística dos demais tratamentos, o que reflete a eficiência desse tratamento principalmente na dose intermediária, visto que foi o comportamento que apresentou menor tendência ao escurecimento. Na cultivar **Fuji**, o tratamento ES, na dose intermediária, apresentou melhor resultado nessa variável. Ao fixar cada antioxidante e comparar as doses, as principais diferenças são verificadas na dose controle e máxima para as duas cultivares, o que era esperado, haja vista que o controle apresentou menores valores em relação aos demais e, na dose máxima, essa variação pode ter sido influenciada por uma alta dosagem. Isto pode ter

ocorrido, devido ao fato de que, para os antioxidantes exercerem seu papel biológico é necessário que, em baixas concentrações, sejam capazes de impedir, retardar ou prevenir a auto-oxidação ou oxidação mediada por radicais livres e que o produto formado após a reação seja estável (RICE-EVANS, 1996).

Tabela 2. Resultados de *L, a* e b* para purê de maçãs da cultivar **Fuji**, avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidantes.

Purê de maçã Fuji								
Antioxidantes	Dose							
	Controle		Mínima		Intermediária		Máxima	
	L*							
AE	50,10	aB	58,14	aA	56,56	aA	57,67	abA
AK	51,56	aB	53,76	aB	53,52	aB	61,68	aA
ES	55,66	aA	53,42	aA	57,47	aA	60,43	abA
AA+AC	50,10	aA	56,03	aA	56,61	aA	54,73	bA
	a*							
AE	7,79	aA	4,97	bB	8,88	aA	4,72	bB
AK	8,98	aA	9,72	aA	8,10	abA	10,83	aA
ES	10,51	aA	3,14	bB	2,06	cB	3,16	bB
AA+AC	7,79	aA	4,95	bB	5,73	bAB	3,28	bB
	b*							
AE	29,75	aA	27,71	aA	26,76	abA	31,75	aA
AK	31,18	aA	32,66	aA	33,14	aA	37,92	aA
ES	33,88	aA	27,86	bAB	22,86	bB	34,96	aA
AA+AC	29,75	aA	34,21	aA	35,13	aA	31,07	aA

Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as doses dentro de cada antioxidante e os antioxidantes em cada dose, respectivamente. AE) ácido eritórbito; AK) ácido kójico; ES) eritorbato de sódio e AA+AC) ácido ascórbico combinado com ácido cítrico. **Doses:** AE (mínima = 3 %, intermediária = 5 % e máxima = 7 %); AK (mínima = 0,07 %, intermediária = 0,09 % e máxima = 1,1 %); ES (mínima = 5 %, intermediária = 7 % e máxima = 9 %); e AA+AC (mínima = 0,5 % + 0,1 % ácido cítrico, intermediária = 0,5 % + 0,3 % ácido cítrico, máxima = 0,5 % + 0,5 % ácido cítrico).

Tabela 3. Resultados de *L, a* e b* para purê de maçãs da cultivar **Gala**, avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidantes.

Purê de maçã Gala								
Antioxidantes	Dose							
	Controle		Mínima		Intermediária		Máxima	
	*L							
AE	53,90	bB	63,83	bA	58,10	bAB	52,97	aB
AK	49,45	bB	58,12	cA	58,46	bA	55,33	aA
ES	66,95	aA	70,01	aA	72,36	aA	58,25	aB
AA+AC	52,58	bB	58,64	bA	59,90	bA	57,87	aA
	*a							
AE	10,62	aA	2,56	cC	6,82	bB	7,51	bAB
AK	12,55	aA	13,92	aA	12,65	aA	12,23	aA
ES	11,00	aA	1,84	cB	2,03	cB	3,55	cB
AA+AC	10,46	aA	6,80	bB	5,43	bB	7,23	bB
	b*							
AE	34,04	bA	33,48	bA	24,6	bB	23,33	cB
AK	30,81	bB	41,70	aA	37,37	aAB	38,05	aAB
ES	42,58	aA	37,37	abA	38,44	aA	29,10	bcB
AA+AC	35,16	bA	32,36	bA	29,85	bA	32,75	abA

Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as doses dentro de cada antioxidante e os antioxidantes em cada dose, respectivamente. **AE)** ácido eritórbito; **AK)** ácido kójico; **ES)** eritorbato de sódio e **AA+AC)** ácido ascórbico combinado com ácido cítrico. **Doses:** AE (mínima = 3 %, intermediária = 5 % e máxima = 7 %); AK (mínima = 0,07 %, intermediária = 0,09 % e máxima = 1,1 %); ES (mínima = 5 %, intermediária = 7 % e máxima = 9 %); e AA+AC (mínima = 0,5 % + 0,1 % ácido cítrico, intermediária = 0,5 % + 0,3 % ácido cítrico, máxima = 0,5 % + 0,5 % ácido cítrico).

Entre as cultivares, foi possível identificar diferença de comportamento em relação aos tratamentos e doses, verificando-se que a cultivar **Gala** apresentou coloração mais clara do que a cultivar **Fuji** quando se trata de frutas na forma de purê. Foi possível verificar diferenças no comportamento da variável L^* entre cultivares no trabalho realizado por Podsedek et al. (2000), os quais mostraram que purê de maçã cultivar **Shampion** apresentou maior valor L^* do que da cultivar **Idared**. O trabalho destes autores apontou para uma maior susceptibilidade de maçãs **Idared** ao escurecimento em comparação com a cultivar **Shampion**. Resultado próximo a esse estudo também foi encontrado por Son et al. (2001), ao testar a ação de diversos agentes antioxidantes entre eles ácido kójico, ácido cítrico e ácido ascórbico em fatias de maçãs. Eles perceberam que, essa variável, após três horas do contato com o antioxidante, o tratamento com AK, em concentrações que variaram de 0,025

% a 0,100%, em relação aos outros tratamentos, foi o que apresentou resultados menos promissores. Aumento mais expressivo no valor de L* foi observado com o tratamento ácido ascórbico 1 % seguido do tratamento com ácido cítrico 0,1 %.

A coordenada a* é um parâmetro importante para o estudo de escurecimento, pois a cor marrom resultante da presença de melaninas representa uma combinação do verde e vermelho. Um maior escurecimento é representado por um tom mais avermelhado, ou seja, maior valor de a* (OLIVEIRA et al., 2008). A intensidade da cor vermelha a * e amarelo b* foram significativamente diferentes em relação ao controle.

Tanto em **Fuji** quanto em **Gala** (Tab.2 e 3), o tratamento com ES, na dose intermediária, foi satisfatório nesse aspecto, pois reduziu significativamente os valores de a* quando comparado com os demais tratamentos, evidenciando valores mais próximos de zero. Os valores da coordenada b* apresentaram-se positivos, verificou-se alterações significativas do croma b*, no tratamento com ácido eritórbito (AE) na dose intermediária, quando comparado aos demais tratamentos na cultivar **Fuji**. Na cultivar **Gala**, os tratamentos com AE e ES, nas doses máximas, foram diferentes dos demais. Oszmian'ski et al. (2007) utilizaram 0,05 % de ácido ascórbico e aquecimento a 90 °C para prevenir o escurecimento enzimático de purê de maçã **Shampion** e obtiveram valores de L* de 60,97, a* 2,74 e b* 20,74. Isso evidencia a importância desse estudo visto que foi possível chegar a valores próximos somente com a utilização de agentes coadjuvantes. Este resultado foi atribuído à atividade de inibição das enzimas oxidativas presentes nas frutas e enfatizou a importância do uso de agente antioxidante na redução do escurecimento do purê de maçã.

Conforme as Figs.10-15 houve interação dupla entre fator antioxidante/dose e períodos de armazenamento; foi verificado que a variável *L, com exceção do tratamento ES, foi reduzindo durante o período de armazenamento. Em todos os tratamentos o controle apresentou menores valores, observando-se assim o efeito positivo do uso dos agentes antioxidantes nessa variável. Melhores resultados foram encontrados com o uso de ES, visto que, para as duas cultivares, ressalta-se um aumento desse parâmetro com o passar do tempo de armazenamento, o que evidencia a

eficiência do tratamento ao manter a cor mais clara dos purês. Ao avaliar-se a dose, nas duas cultivares, asmínimas e intermediárias resultaram em purê menos escurecido durante o armazenamento; contudo, no último dia, a dose intermediária foi mais eficaz. Chiabrando e Giacalone (2012), ao avaliarem o efeito do uso de antioxidantes (ácido ascórbico 1 % e ácido cítrico 1 % combinados com cloreto de cálcio e atmosfera controlada) em maçãs **Golden Delicious** e **Granny Smith**, obtiveram valores maiores do que nesse estudo, cerca de 80 e 70, respectivamente, no quarto dia de armazenamento. Sapers e Ziolkowski (1987), ao comparar o efeito de ácido e eritórbito (AE) e eritorbatato de sódio (ES) em concentrações de até 2 %, verificaram a eficiência desses antioxidantes na redução do escurecimento em fatias de maçãs e em suco das cultivares **Golden Delicious** e **Granny Smith**. Contudo, no estudo desses autores, o efeito foi menos relevante, visto que após uma hora de armazenamento os valores de a^* foram de 50 para AE e 48 para ES; além disso, esse ensaio indicou que os dois compostos foram equivalentes como inibidores de escurecimento.

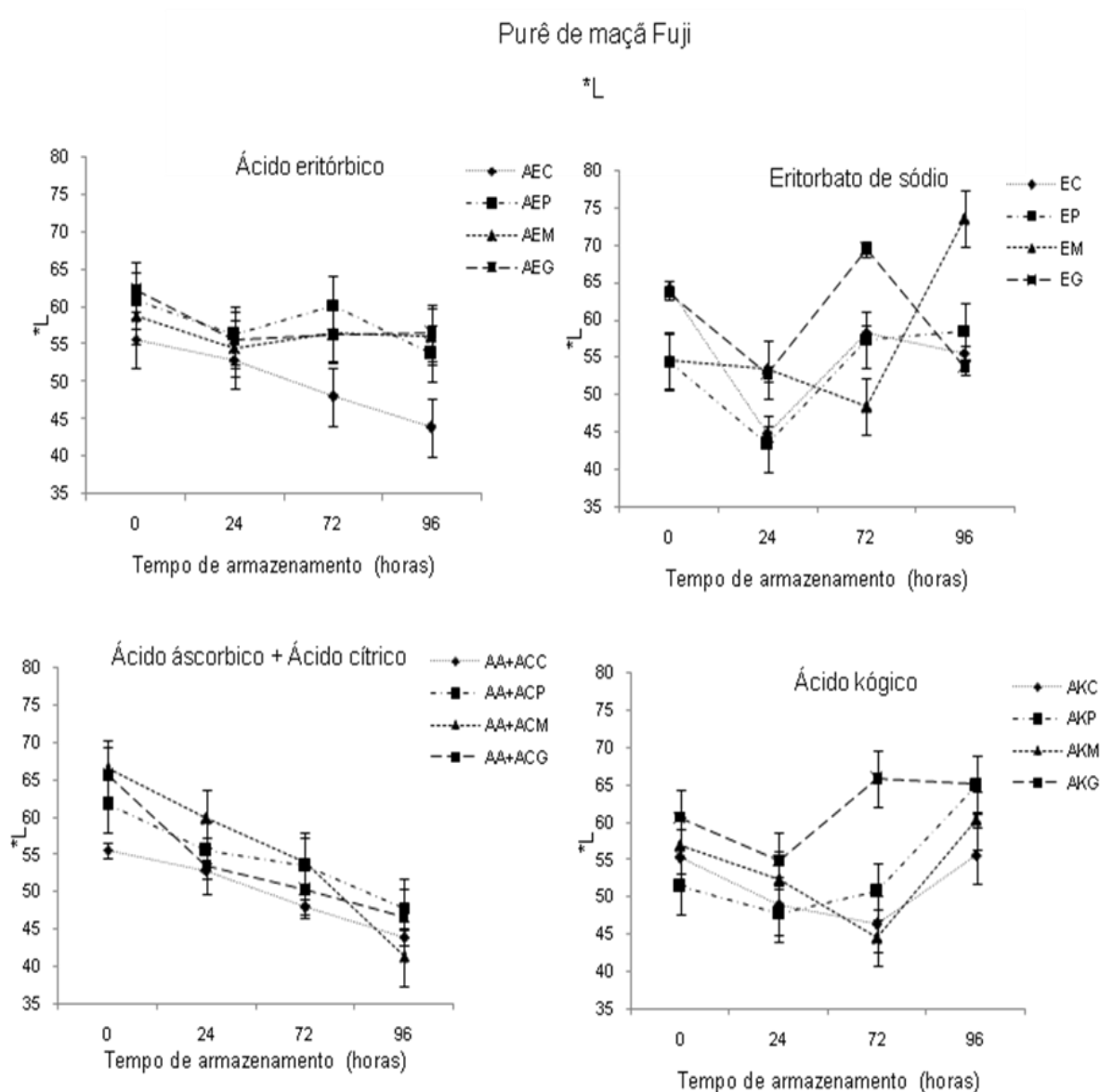


Figura8. *Lde purê de maçã da cultivarFuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido lójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

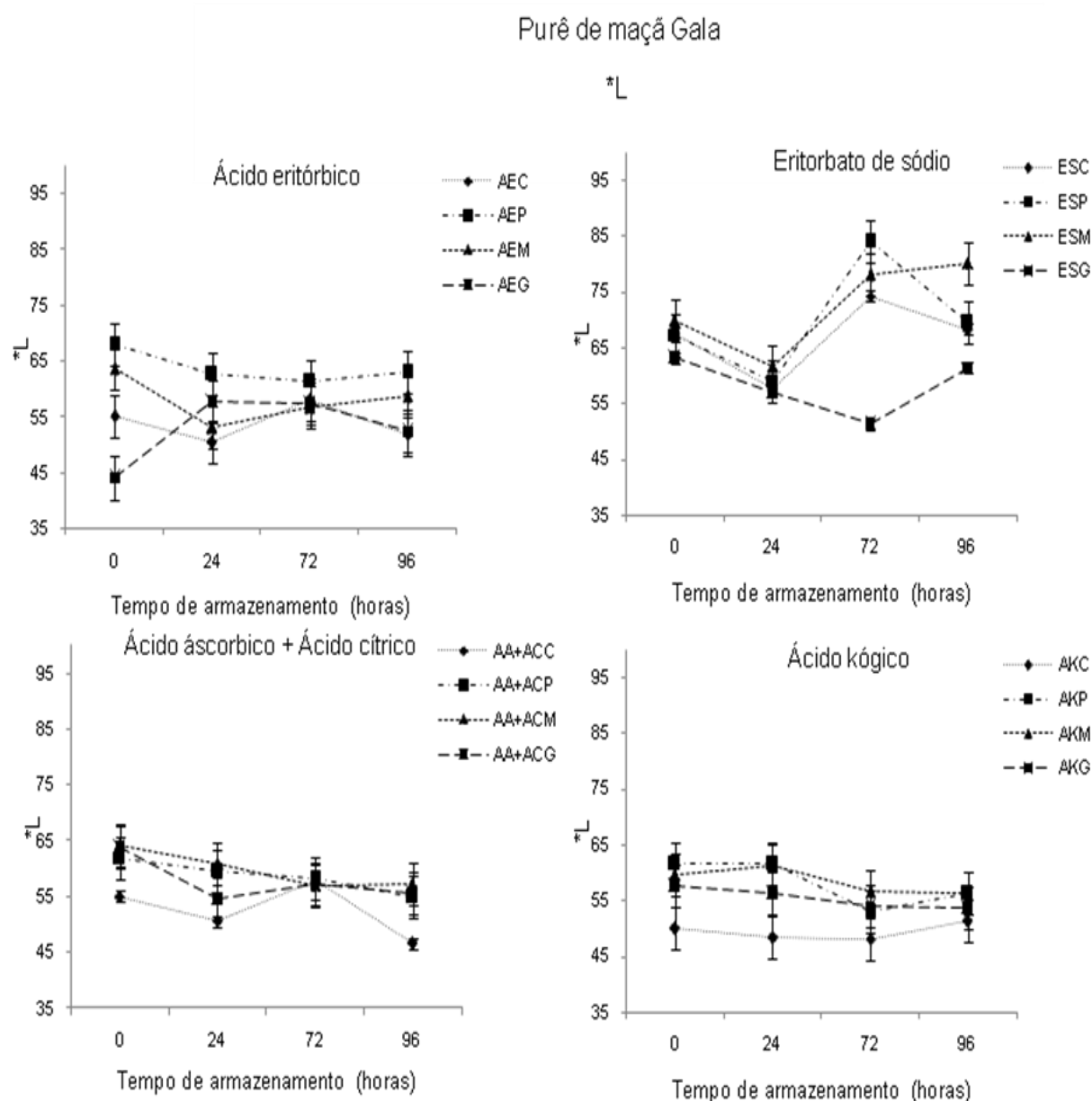


Figura9. *L de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

Na variável a^* , conforme verificado nas figuras 12 e 13, não foi constatada diferença significativa nos tratamentos, com excessão do tratamento com ES. Em ambas as cultivares, o AE e o ES apresentaram diferença de comportamento do controle em relação aos demais. As doses

mínimas e intermediárias apresentaram comportamentos similares com o aumento do tempo de armazenamento, sendo que na cultivar **Gala**, tratada com AE, a dose mínima se diferenciou dos demais, apresentando valores próximos de 2,0. Tortoe et al. (2006), ao avaliarem a ação de diferentes antioxidantes, dentre eles a combinação de ácido ascórbico e ácido cítrico, perceberam que no sétimo dia de armazenamento os valores para variável a^* se apresentaram em torno de 3,0. Isto reforça a eficiência nesse estudo, uma vez que, para o uso de ES e AE nas duas cultivares, essa variável manteve-se menor ao longo do armazenamento, apresentando valores próximos de 1,0 no quarto dia.

A ação do antioxidante/dose sobre o parâmetro b^* não foi expressiva, tendo em vista que esta variável não apresentou diferenças significativas com o aumento do período de armazenamento (figuras. 14 e 15).

Purê de maçã Fuji

a^*

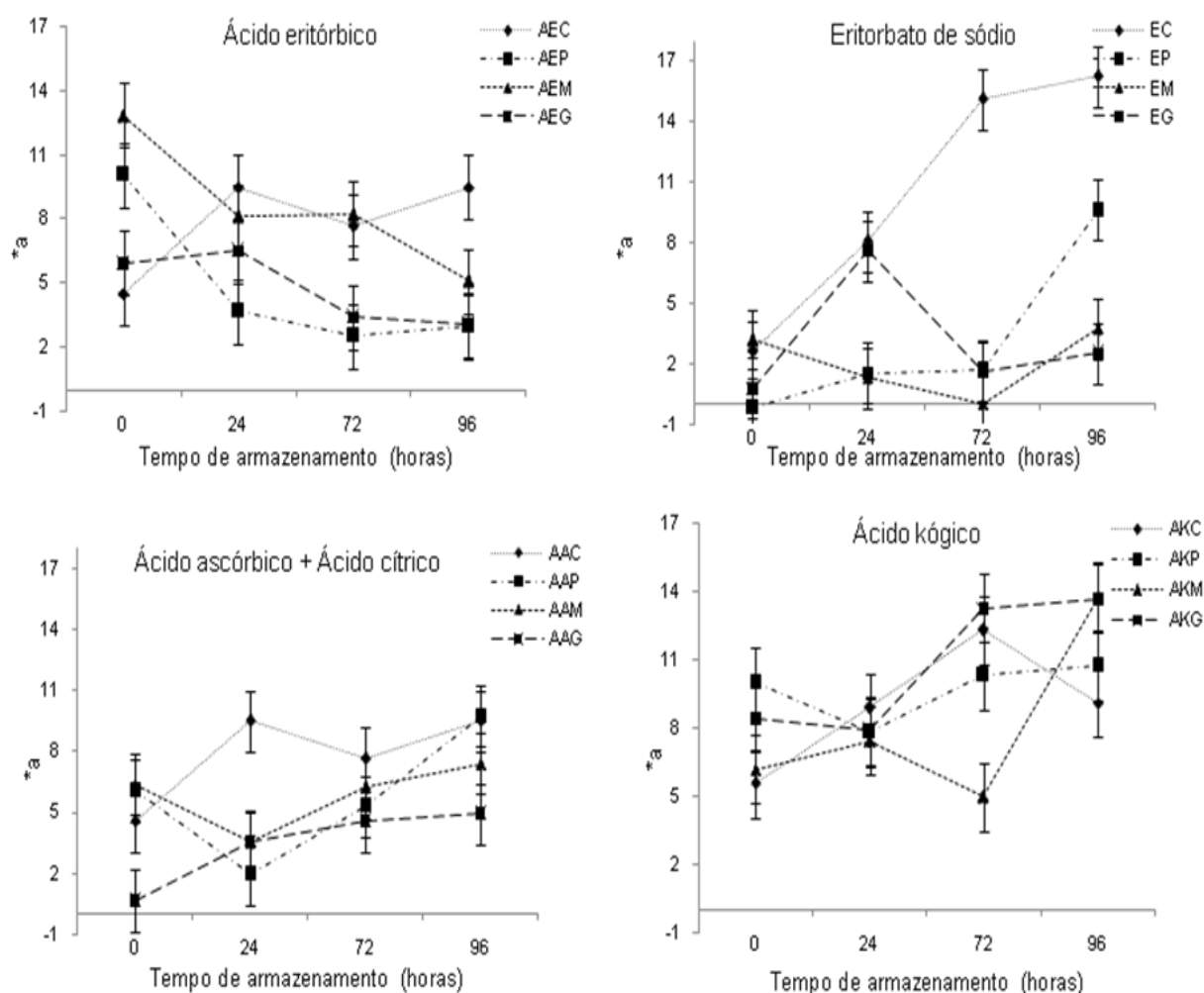


Figura10. a^* de purê de maçã da cultivarFuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (K) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

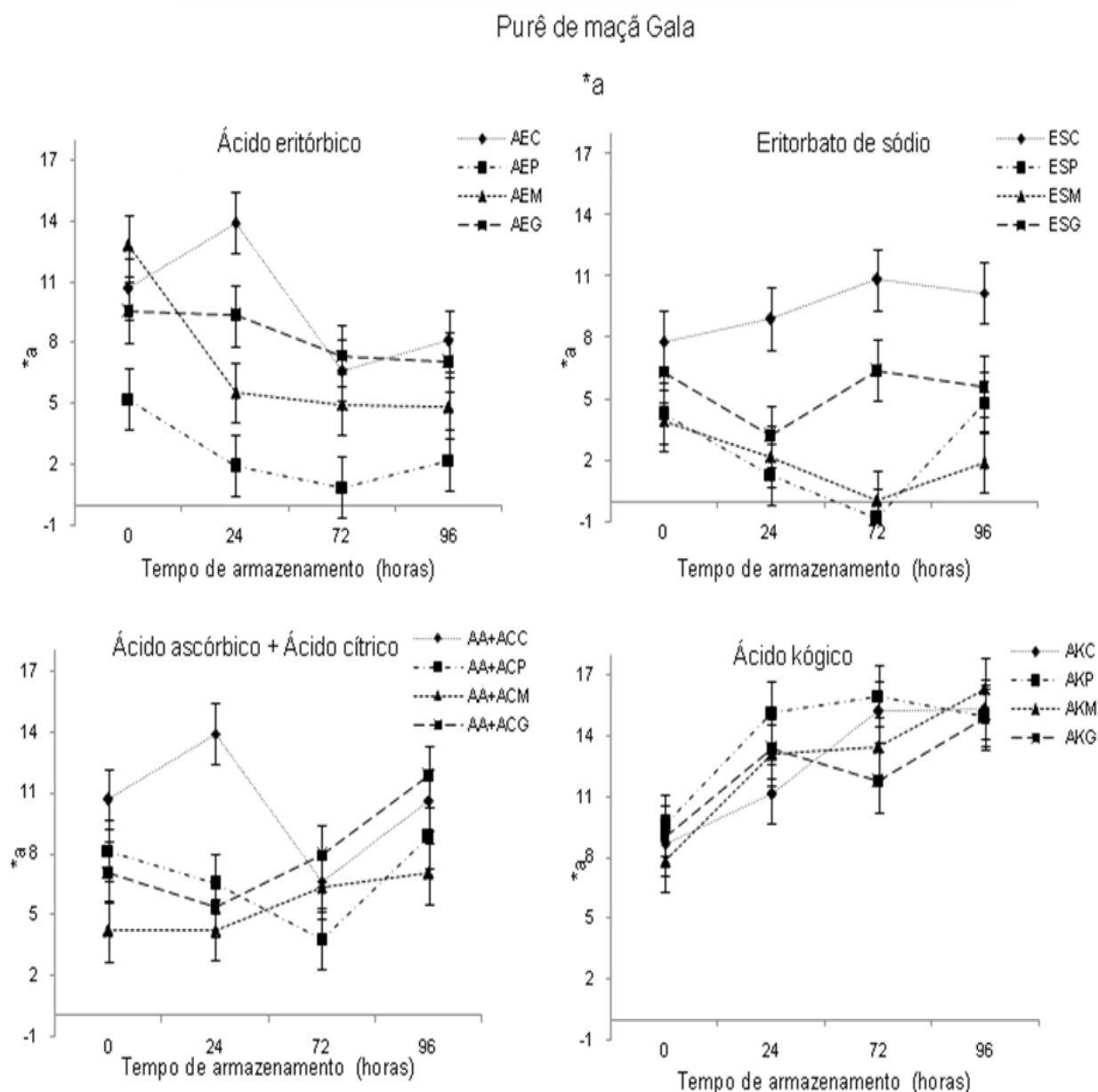


Figura11. a^* de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

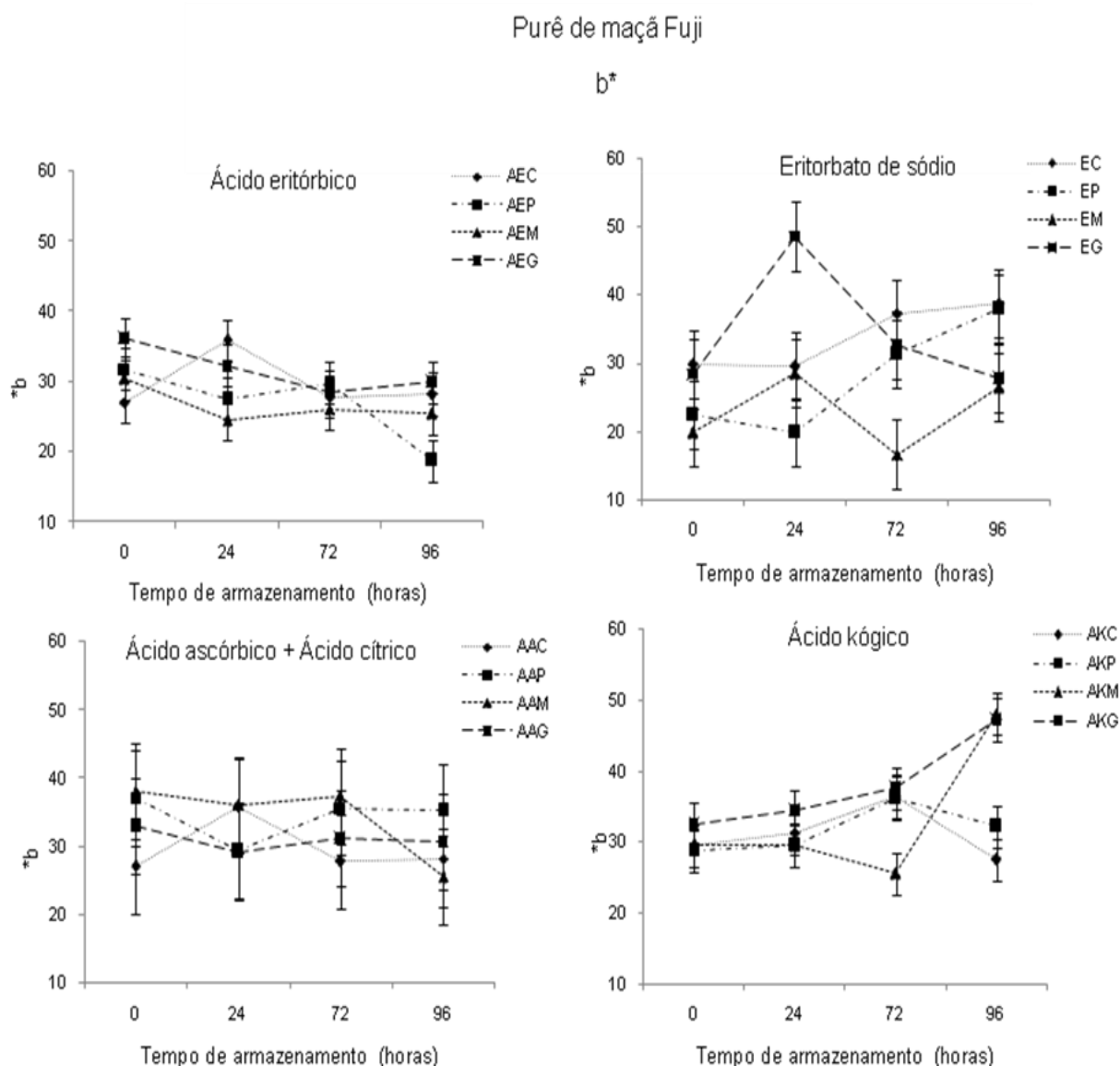


Figura12. *b de purê de maçã da cultivar **Fuji** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

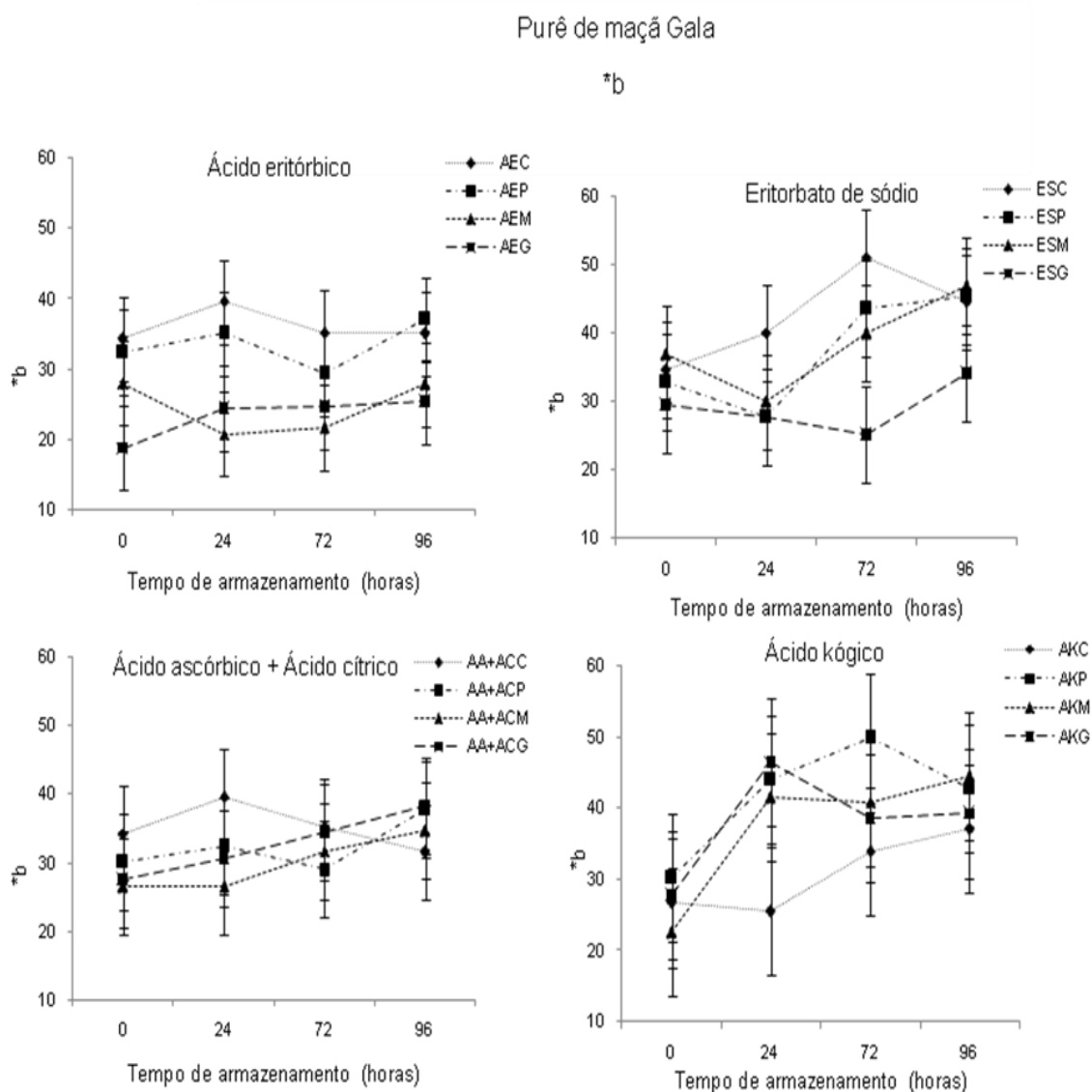


Figura13. *b de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

A partir dos valores de L^* , a^* e b^* , foi calculado o ângulo Hue (0° - 90°), Croma e índice de Escurecimento (IE) de cada amostra utilizando as equações 1.1 a 1.4. Os resultados estão apresentados na Tabela 4 e 5.

Tabela 4. Resultados de *Hue, Croma* e IC* para purê de maçãs da cultivar **Fuji** avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidante.

Purê de maçã Fuji								
Antioxidantes	Dose							
	Controle		Mínima		Intermediária		Máxima	
	Hue							
AE	75,53	aB	80,09	aA	71,54	cB	81,62	aA
AK	74,23	aAB	72,29	bAB	76,99	bA	74,30	bAB
ES	74,01	aB	84,85	aA	83,44	aA	85,06	aA
AA+AC	75,53	aB	82,09	aA	80,45	abA	83,13	aA
Croma								
AE	55,58	aA	54,08	aA	49,86	aA	56,69	aA
AK	32,53	bA	33,23	bA	34,15	bA	39,50	bA
ES	35,76	bA	28,24	bAB	23,48	bB	35,35	bA
AA+AC	65,08	aA	34,69	bB	35,63	bB	31,51	bB
IC								
AE	71,58	abB	44,87	cA	46,57	bA	58,13	bA
AK	104,52	aA	100,45	aA	102,74	aA	102,78	aA
ES	104,52	aA	73,97	bAB	56,34	bB	98,10	aA
AA+AC	51,32	bB	96,48	aA	99,14	aA	86,27	abA

Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as doses dentro de cada antioxidante e os antioxidantes em cada dose, respectivamente. AE) ácido eritórbito; AK) ácido kójico; ES) eritorbato de sódio e AA+AC) ácido ascórbico combinado com ácido cítrico. **Doses:** AE (mínima = 3 %, intermediária = 5 % e máxima = 7 %); AK (mínima = 0,07 %, intermediária = 0,09 % e máxima = 1,1 %); ES (mínima = 5 %, intermediária = 7 % e máxima = 9 %); e AA+AC (mínima = 0,5 % + 0,1 % ácido cítrico, intermediária = 0,5 % + 0,3 % ácido cítrico, máxima = 0,5 % + 0,5 % ácido cítrico).

Tabela 5. Resultados de *Hue, Croma* e IC* para purê de maçãs da cultivar **Gala** avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidante.

Purê de maçã Gala								
Antioxidantes	Dose							
	Controle		Mínima		Intermediária		Máxima	
	Hue							
AE	73,49	bB	85,67	aA	74,55	cB	74,57	bB
AK	67,67	cB	71,57	cA	71,36	cA	71,93	bA
ES	77,98	aB	87,00	aA	86,95	aA	83,14	aA
AA+AC	72,00	bB	78,58	bA	79,81	bA	76,84	bA
Croma								
AE	37,61	bA	33,67	aB	25,81	bC	26,80	cC
AK	33,36	bB	43,98	aA	39,48	aAB	40,04	abAB
ES	43,81	aA	37,65	aA	39,72	aA	29,93	bcB
AA+AC	36,85	bA	44,11	aA	43,86	aA	45,52	aA
IC								
AE	117,90	aA	74,10	bB	61,96	bB	67,66	bB
AK	111,30	aA	163,53	aA	107,14	aA	117,30	aA
ES	107,10	aA	75,85	bB	69,97	bB	76,77	bB
AA+AC	118,60	aA	77,24	bB	67,41	bB	83,06	bB

Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as doses dentro de cada antioxidante e os antioxidantes em cada dose, respectivamente. AE) ácido eritórbito; AK) ácido kójico; ES) eritorbato de sódio e AA+AC) ácido ascórbico combinado com ácido cítrico. **Doses:** AE (mínima = 3 %, intermediária = 5 % e máxima = 7 %); AK (mínima = 0,07 %, intermediária = 0,09 % e máxima = 1,1 %); ES (mínima = 5 %, intermediária = 7 % e máxima = 9 %); e AA+AC (mínima = 0,5 % + 0,1 % ácido cítrico, intermediária = 0,5 % + 0,3 % ácido cítrico, máxima = 0,5 % + 0,5 % ácido cítrico).

De acordo com o sistema CIELAB, quanto maior o ângulo Hue mais amarelo é o fruto e, quanto menor for mais vermelho é o fruto. Pode ser observado que em ambas cultivares o tratamento com eritorbato de sódio manteve-se a cor amarelo inicialmente, o qual já era maior nas 24 horas em comparação aos demais tratamentos (Fig. 37). O Croma é uma medida da pureza da cor, nas duas cultivares os menores valores (menor intensidade da coloração marrom) foram obtidos nos tratamentos com o ES e AE com doses intermediárias. Na cultivar **Fuji** houve diferença estatística na dose intermediária de ES, enquanto que na **Gala** essa diferença foi observada nas doses intermediárias e máximas do AE.

O Índice de Escurecimento apresentou um comportamento bem expressivo, pois foi possível observar que purês tratados com AE e ES apresentaram um menor valor quando comparados com os demais. Essa

variável traduz de forma objetiva o aspecto visual do purê de maçã, isso possibilita verificar que, nas doses mínimas e máximas observa-se maiores valores de índice de escurecimento, o que contribui para a eficácia da dose intermediária sobre o efeito redutor no escurecimento.

Fontes et al. (2008) obtiveram bons resultados realizando ensaios utilizando solução conservante composta de ácido ascórbico, ácido cítrico, cloreto de cálcio e cloreto de sódio; relatam que o uso dessa solução resultou em maçãs minimamente processadas com menores índices de escurecimento e sem alteração da cor natural.

Na variável Hue, em ambas as cultivares, avaliando a interação dupla entre fator antioxidante/dose e períodos de armazenamento não houve diferenças estatísticas nos tratamentos com os antioxidantes durante o tempo de armazenamento. Nos tratamentos com AE foi observado aumento desse parâmetro com o tempo de armazenamento, tendo sido constatada coloração mais rosada em relação aos demais (Fig. 32 e 35). Raybaudi-Massilia et al. (2007), ao estudar o comportamento de maçãs da cultivar **Fuji** em diferentes estágios de maturação (parcialmente madura e maduras) utilizando N-acetil-L-cisteína (1 %), Lactato de Cálcio (1 %) e L-d-málico (2,5%), obtiveram valores de Hue entre 85 e 95 para os dois estágios de maturação da fruta em sete dias de armazenamento. Estes dados corroboram a eficiência deste experimento, pois o purê da cultivar **Fuji**, em quatro dias de armazenamento, apresentou valores menores no tratamento AE (75 na dose intermediária).

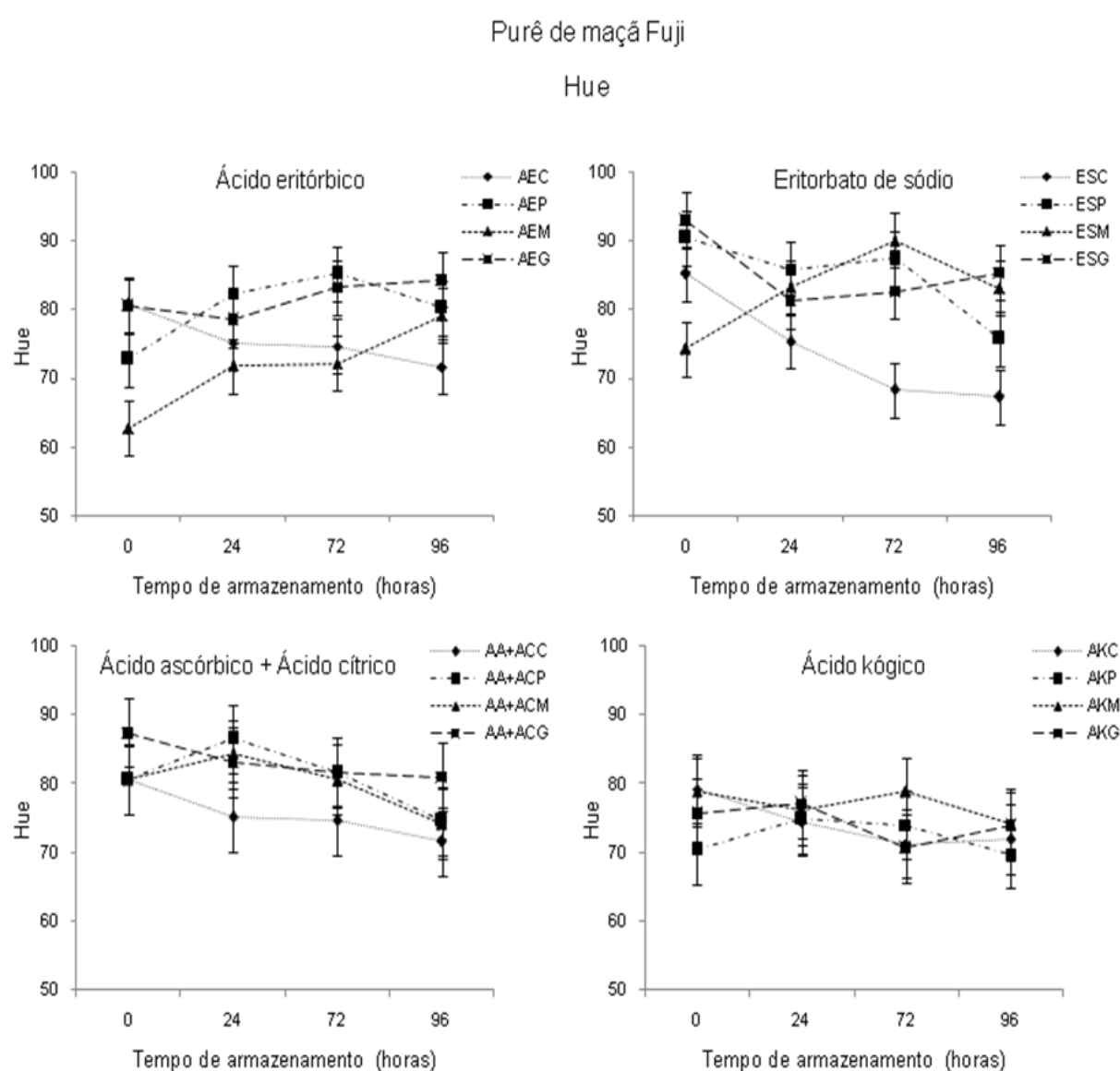


Figura14. Hue de purê de maçã da cultivar **Fuji** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritóbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

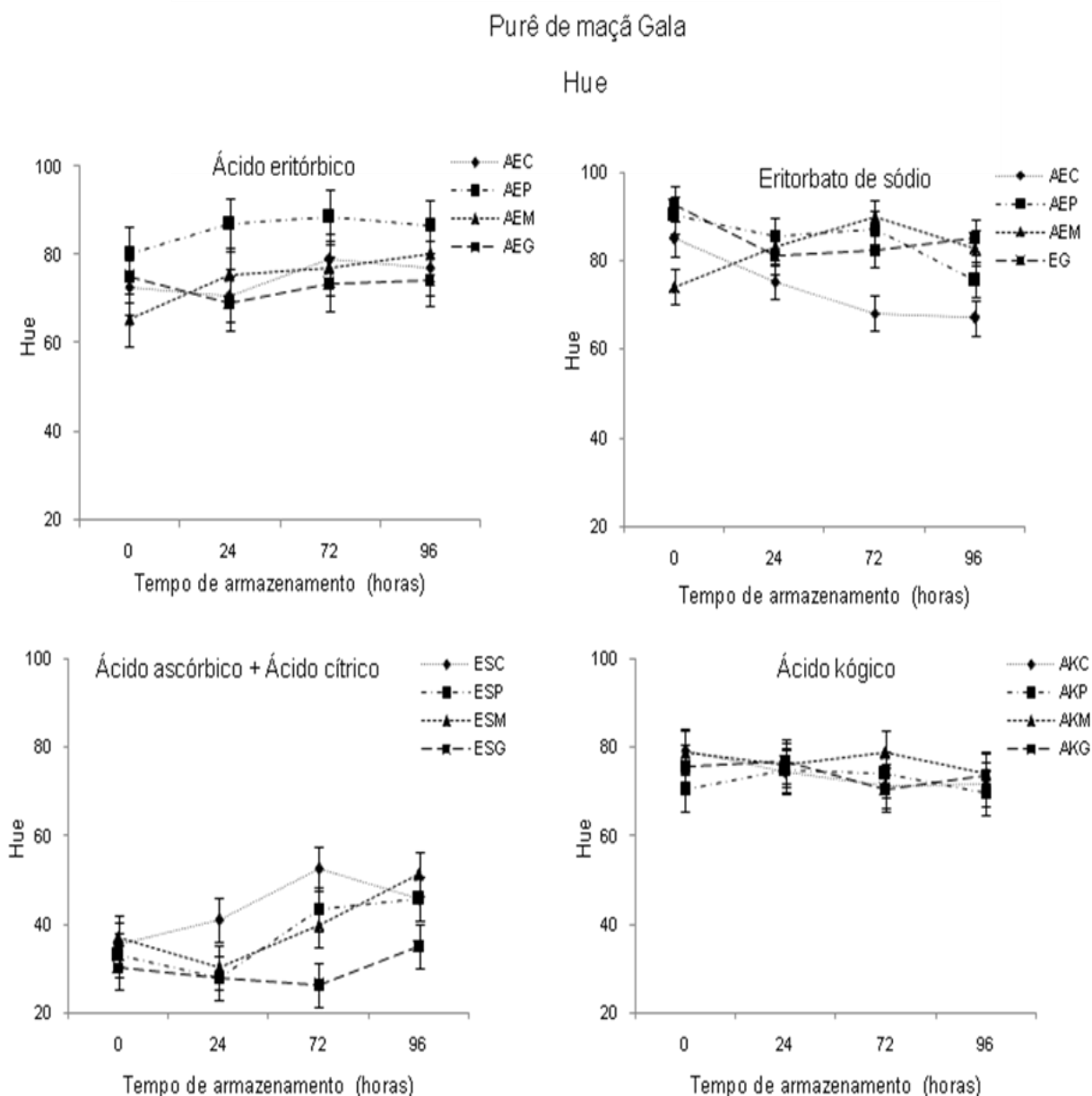


Figura15. Hue de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

Para a cultivar **Fuji**, nos tratamentos com AE e ES, ressalta-se o efeito positivo para o Croma, pois em comparação com os demais tratamentos, ocorreu redução dessa variável ao final do armazenamento; enquanto que em **Gala**, esse efeito foi verificado com os tratamentos ES e AK.

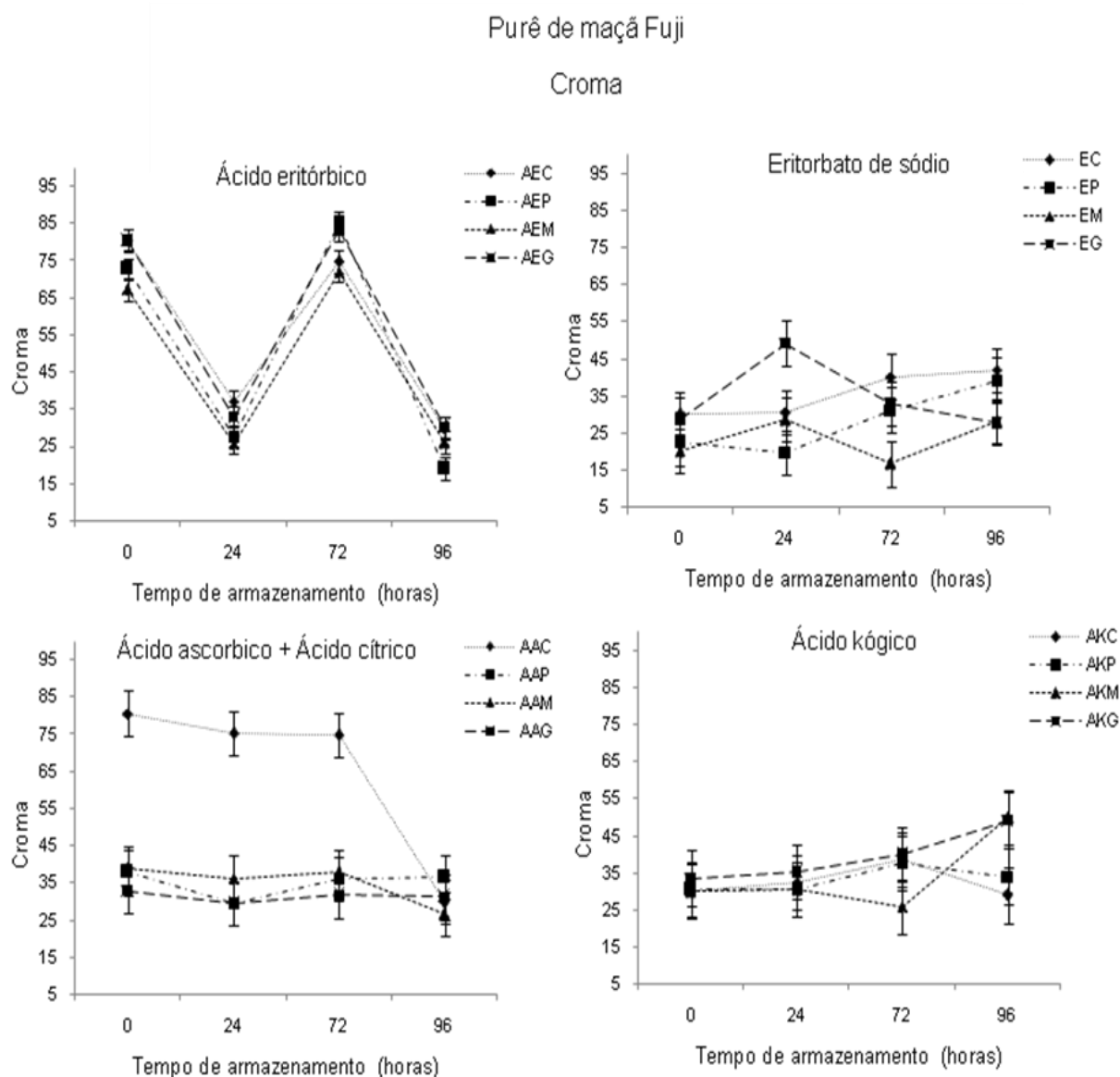


Figura16. Cromade purê de maçã da cultivarFuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

Purê de maçã Gala

Croma

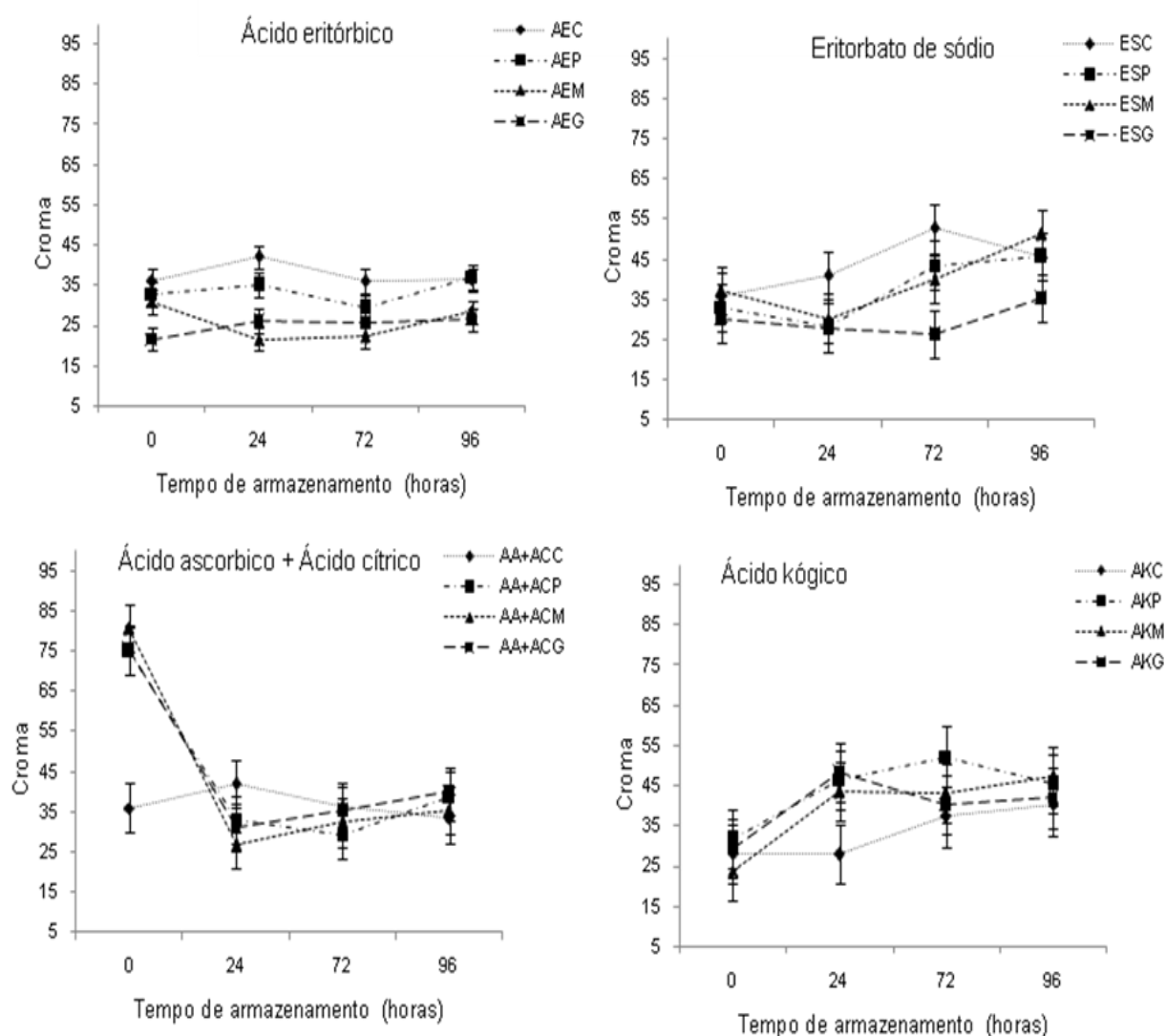


Figura17. Croma de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

No índice de escurecimento, os tratamentos AE e ES diferenciaram-se dos demais na dose intermediária, identificando tendência menor ao escurecimento em todo período de armazenamento, apontando o efeito positivo desses tratamentos/doses na manutenção da cor do purê de maçã. Pineli et al. (2005), usando eritorbato de sódio ou combinando-o com ácido cítrico e atmosfera controlada, em batatas minimamente processadas, encontraram valores de índice de escurecimento próximos a este estudo. No sexto dia de armazenamento os valores variaram de 80 a 90 e no nono dia ficaram próximos de 100. Esse antioxidante vem sendo Testado com a finalidade de inibição enzimática, com efeitos positivos observados pela combinação de cloreto de cálcio com eritorbato de sódio e 4-hexilresorcinol em fatias de peras minimamente processadas (SAPERS; MILLER, 1998).

O resultado foi promissor, pois o ES foi eficaz na redução do escurecimento na concentração intermediária de 7%, e apresentou melhores resultados em comparação com os demais tratamentos, mesmo quando a fruta foi triturada, e servirá como base para outros estudos com esse antioxidante.

Para a interação dupla entre os fatores antioxidante e dose, na variável pH, ao comparar os tratamentos na cultivar **Fuji** foi possível perceber que houve diferença significativa em todas as doses (Tabela 6). No tratamento AE a dose mínima foi a mais expressiva na redução do pH da purê em relação as demais, em contraste com ES que refletiu num aumento do pH das frutas.

Na cultivar **Gala**, diferenças estatísticas foram observadas para o tratamento ES nas doses intermediária e máxima. Foi observado que os tratamentos tiveram mais ação redutora de pH na cultivar **Gala** do que na **Fuji**. Apesar das oscilações, houve tendência de aumento da acidez. O parâmetro pH tem grande importância sobre o escurecimento oxidativo dos tecidos vegetais e sua diminuição acarreta redução da velocidade de escurecimento do fruto (CARVALHO; LUPETTI; FATIBELLO-FILHO, 2005).

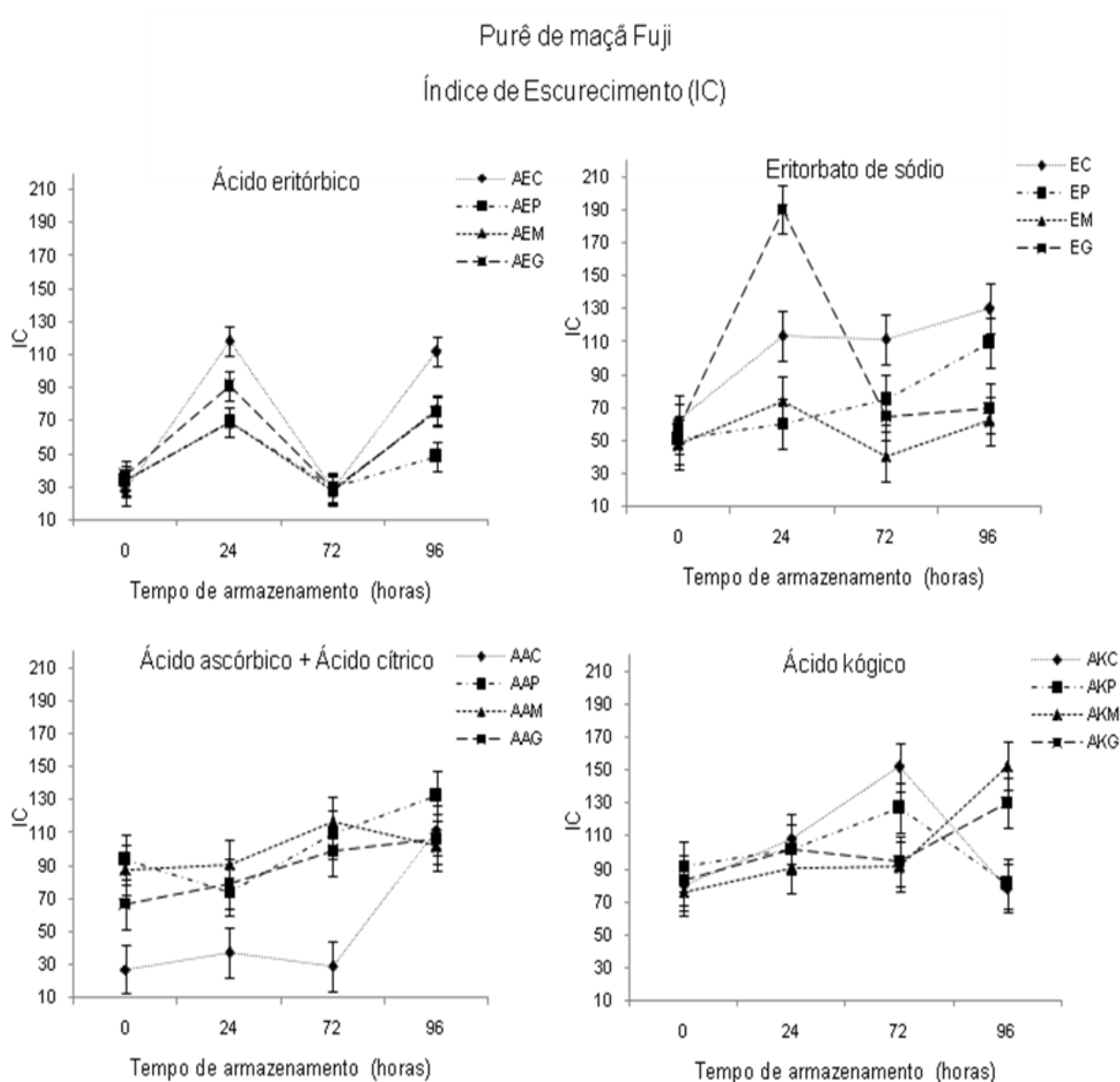


Figura18. Índice de Escurecimento de purê de maçã da cultivar **Fuji** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

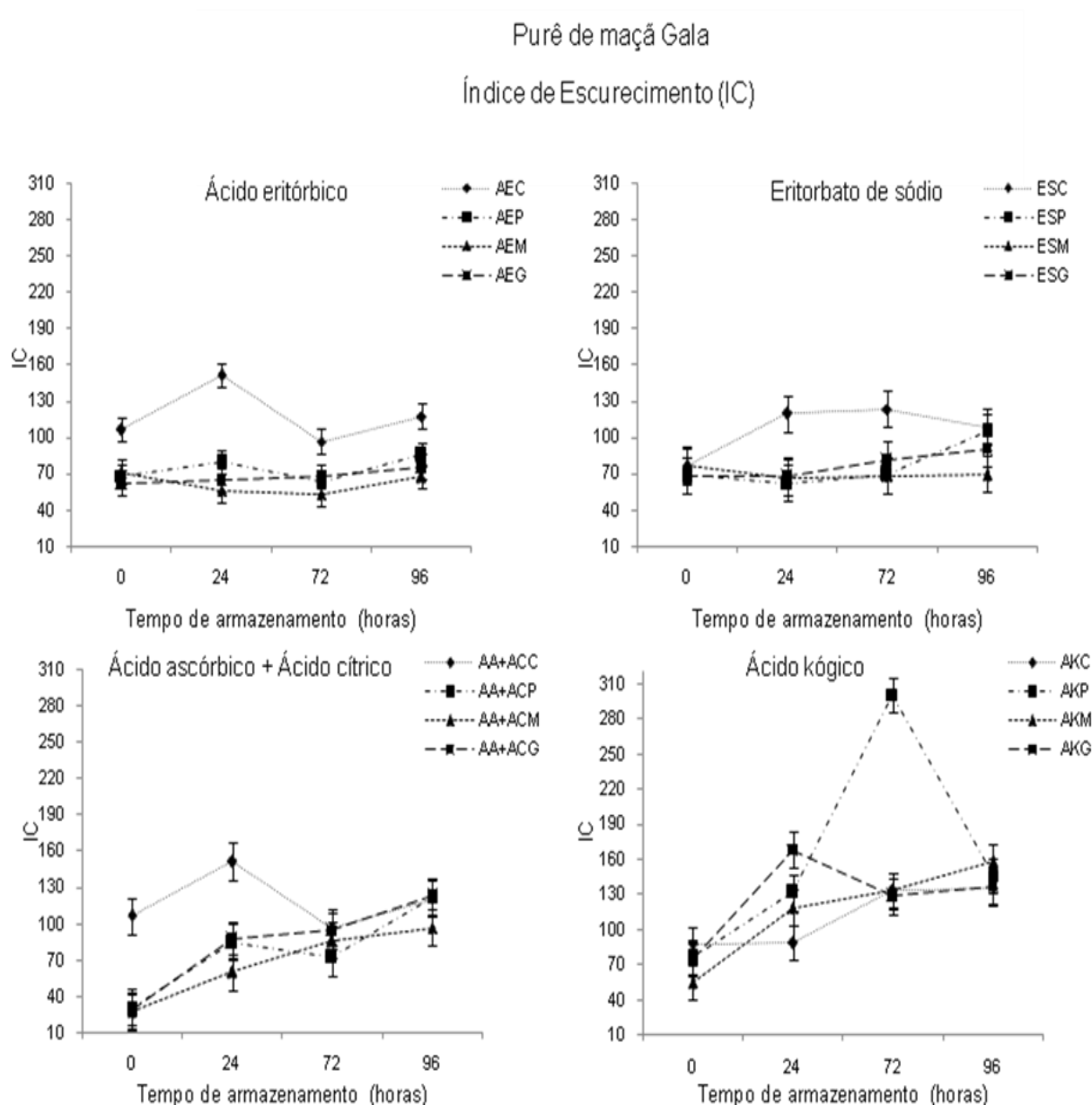


Figura19. Índice de Escurecimento de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %, eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior

O índice de pH e acidez titulável estão relacionados às determinações de ácidos presentes no alimento, sendo que o pH está relacionado a presença de ácido dissociado (íons H⁺ livres), enquanto a acidez titulável expressa a quantidade total de ácidos presentes (ácidos orgânicos livres, na forma de sais e compostos fenólicos). Goularte et al. (2000), encontrou valores de pH e °Brix para a maçã **Fuji** semelhantes aos encontrados nesse estudo 3,76 e 14,00, respectivamente.

Tabela 6. Resultados de pH, Sólidos Solúveis e Acidez Titulável para purê de maçãs da cultivar **Fuji** avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidante.

Purê de maçã Fuji								
Antioxidantes	Dose							
	Controle		Mínima		Intermediária		Máxima	
	pH							
AE	3,61	aA	3,39	cAB	3,53	cC	4,70	aBC
AK	3,54	bB	3,85	aA	3,91	bAB	3,86	bAB
ES	3,60	aD	4,54	bC	4,37	aB	4,70	aA
AA+AC	3,61	aA	3,59	bA	3,86	bBA	3,57	cA
Sólidos Solúveis								
AE	11,73	bC	13,81	aAB	13,58	aA	13,50	bB
AK	12,35	aB	11,51	cC	11,78	cC	12,96	cA
ES	12,07	abC	13,27	bB	13,23	bB	14,96	aA
AA+AC	11,73	bB	13,98	aB	13,65	aA	12,76	cC
Acidez Titulável								
AE	0,31	aC	0,52	aB	0,36	aA	0,48	aA
AK	0,33	aA	0,28	cB	0,27	cB	0,36	bA
ES	0,31	aA	0,26	cA	0,31	bcA	0,28	cA
AA+AC	0,31	aC	0,40	bB	0,35	abA	0,36	bAB

Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as doses dentro de cada antioxidante e os antioxidantes em cada dose, respectivamente. AE) ácido eritórbito; AK) ácido kójico; ES) eritorbato de sódio e AA+AC) ácido ascórbico combinado com ácido cítrico. **Doses:** AE (mínima = 3 %, intermediária = 5 % e máxima = 7 %); AK (mínima = 0,07 %, intermediária = 0,09 % e máxima = 1,1 %); ES (mínima = 5 %, intermediária = 7 % e máxima = 9 %); e AA+AC (mínima = 0,5 % + 0,1 % ácido cítrico, intermediária = 0,5 % + 0,3 % ácido cítrico, máxima = 0,5 % + 0,5 % ácido cítrico).

Tabela 7. Resultados de pH, Sólidos Solúveis e Acidez Titulável para purê de maçãs da cultivar **Gala** avaliada frente a diferentes tratamentos e doses de antioxidante.

Purê de maçã Gala								
Antioxidantes	Dose							
	Controle		Mínima		Intermediária		Máxima	
	pH							
AE	3,51	aA	3,65	aA	3,52	bA	3,45	bA
AK	3,91	aA	3,61	aB	3,62	bB	3,70	bB
ES	3,68	aB	4,56	aA	4,46	aA	4,58	aA
AA+AC	3,51	aA	3,64	aA	3,55	bA	3,57	bA
Sólidos Solúveis								
AE	10,97	aA	10,67	bB	10,36	bB	11,05	bA
AK	10,43	bB	11,40	aA	10,03	bC	11,15	bA
ES	11,12	bA	11,27	bA	11,41	aA	12,75	aA
AA+AC	10,97	cA	11,46	aA	10,48	bB	11,27	bA
Acidez Titulável								
AE	0,20	aC	0,33	aB	0,34	aB	0,42	aA
AK	0,23	aA	0,29	aA	0,26	bA	0,29	bA
ES	0,23	aA	0,13	bB	0,17	cB	0,17	cB
AA+AC	0,20	aC	0,27	aB	0,31	aA	0,30	bAB

Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as doses dentro de cada antioxidante e os antioxidantes em cada dose, respectivamente. AE) ácido eritórico; AK) ácido kójico; ES) eritorbato de sódio e AA+AC) ácido ascórbico combinado com ácido cítrico. **Doses:** AE (mínima = 3 %, intermediária = 5 % e máxima = 7 %); AK (mínima = 0,07 %, intermediária = 0,09 % e máxima = 1,1 %); ES (mínima = 5 %, intermediária = 7 % e máxima = 9 %); e AA+AC (mínima = 0,5 % + 0,1 % ácido cítrico, intermediária = 0,5 % + 0,3 % ácido cítrico, máxima = 0,5 % + 0,5 % ácido cítrico).

Ao avaliar a interação dupla entre fator antioxidante/dose e períodos de armazenamento, em todos os tratamentos, o pH dos frutos apresentou redução frente a ação dos tratamentos. É importante a observação desse parâmetro durante a estocagem, haja vista que agentes acidulantes são geralmente utilizados para manter o pH do meio abaixo do ótimo, colaborando para reduzir ação catalítica das enzimas em alimentos. De acordo com as Figuras 26 e 27, nota-se a ação dos acidulantes, pois em todos os tratamentos a variável controle apresentou maior valor no período de armazenamento. O teor de sólidos solúveis manteve pequena redução durante o período de armazenamento, o que reflete um efeito positivo. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), em maçãs, frutos de comportamento climatérico, a quantidade de

sólidos solúveis tende a aumentar durante os períodos de armazenamento, pelo fato destes continuarem o processo de respiração e converter o amido acumulado no fruto em açúcares, o que provoca a desidratação da fruta e concentra os açúcares.

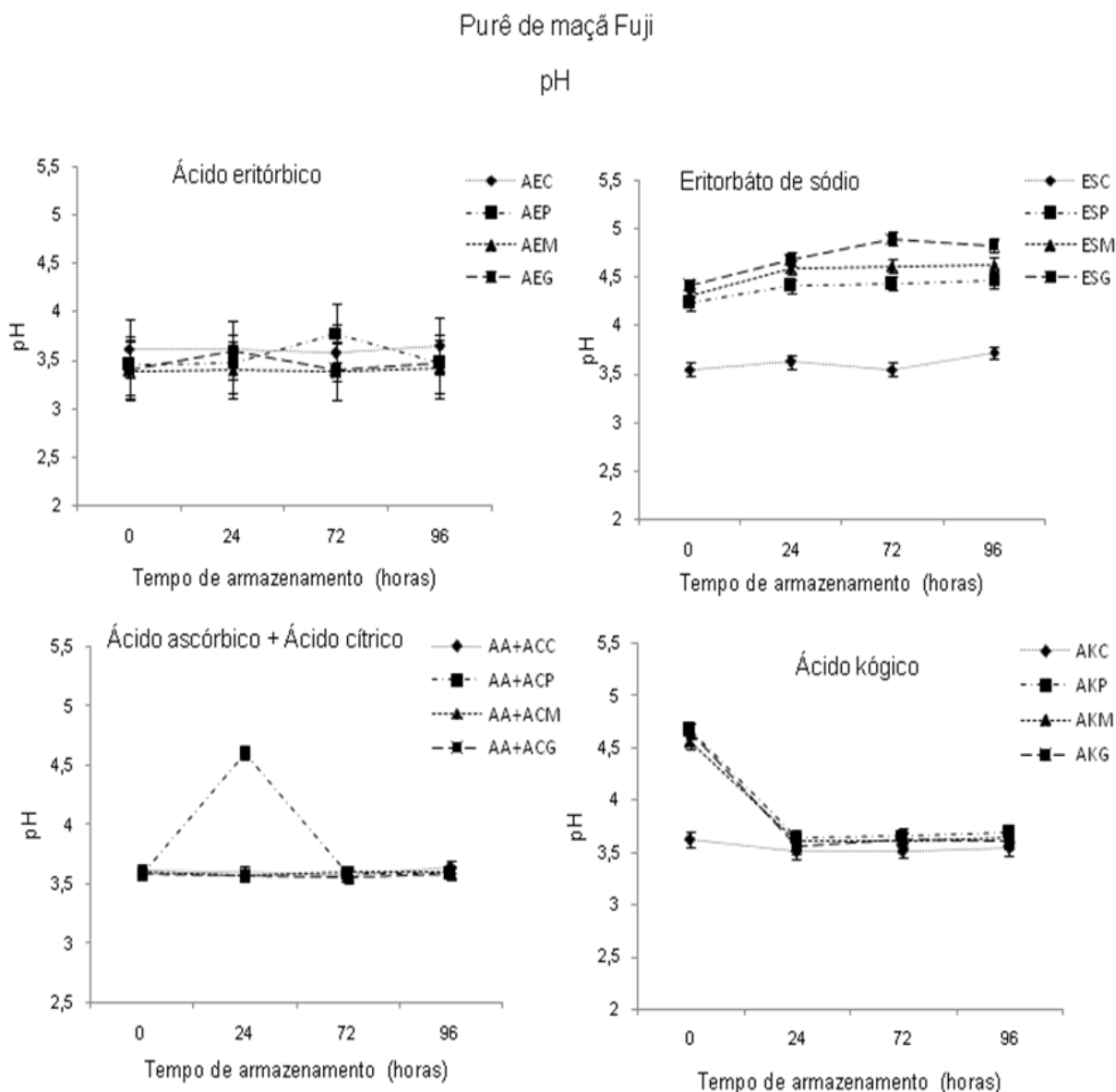


Figura20. pH de purê de maçã da cultivarFuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

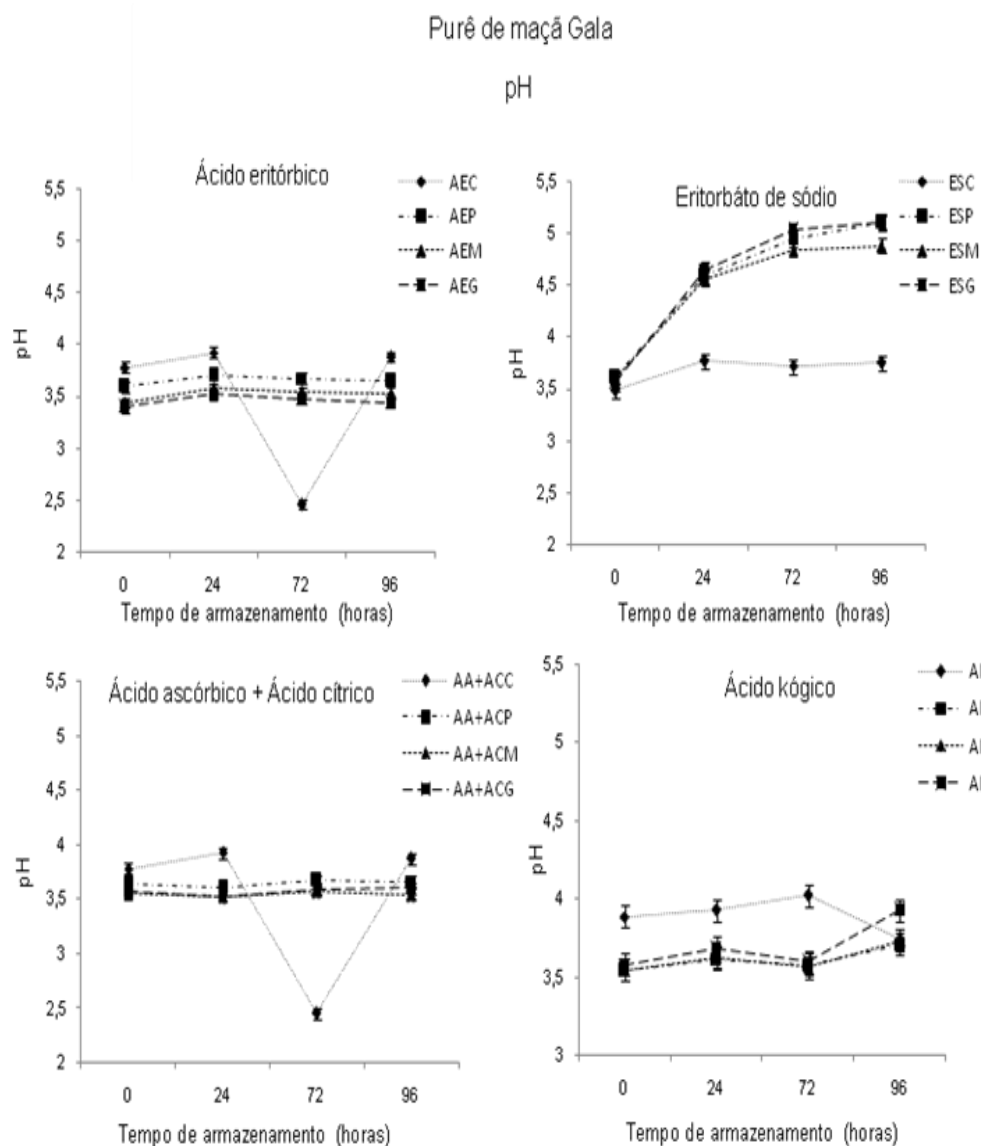


Figura21. pH de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

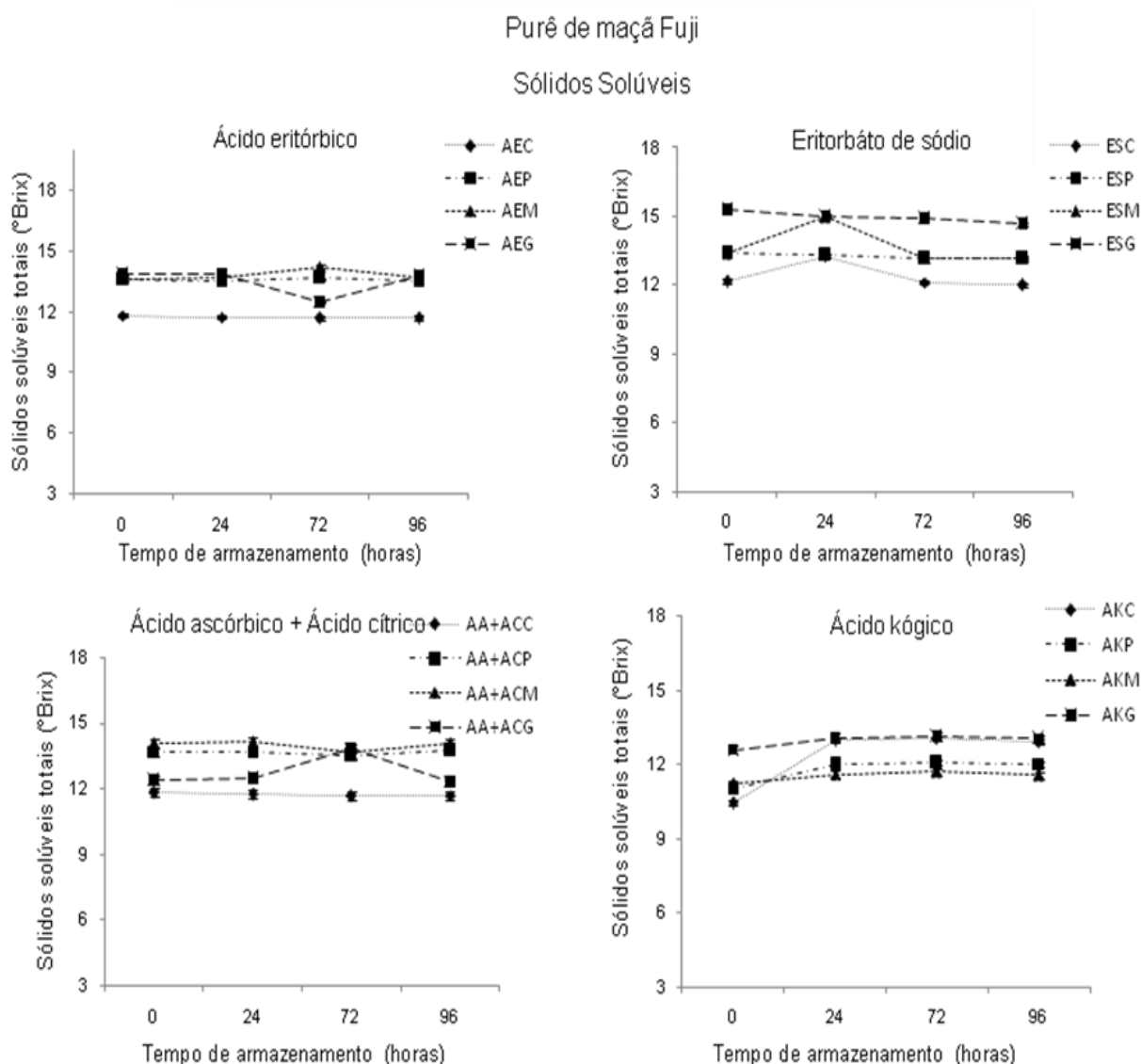


Figura22. Sólidos Solúveis de purê de maçã da cultivar **Fuji** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

Purê de maçã Gala

Sólidos Solúveis

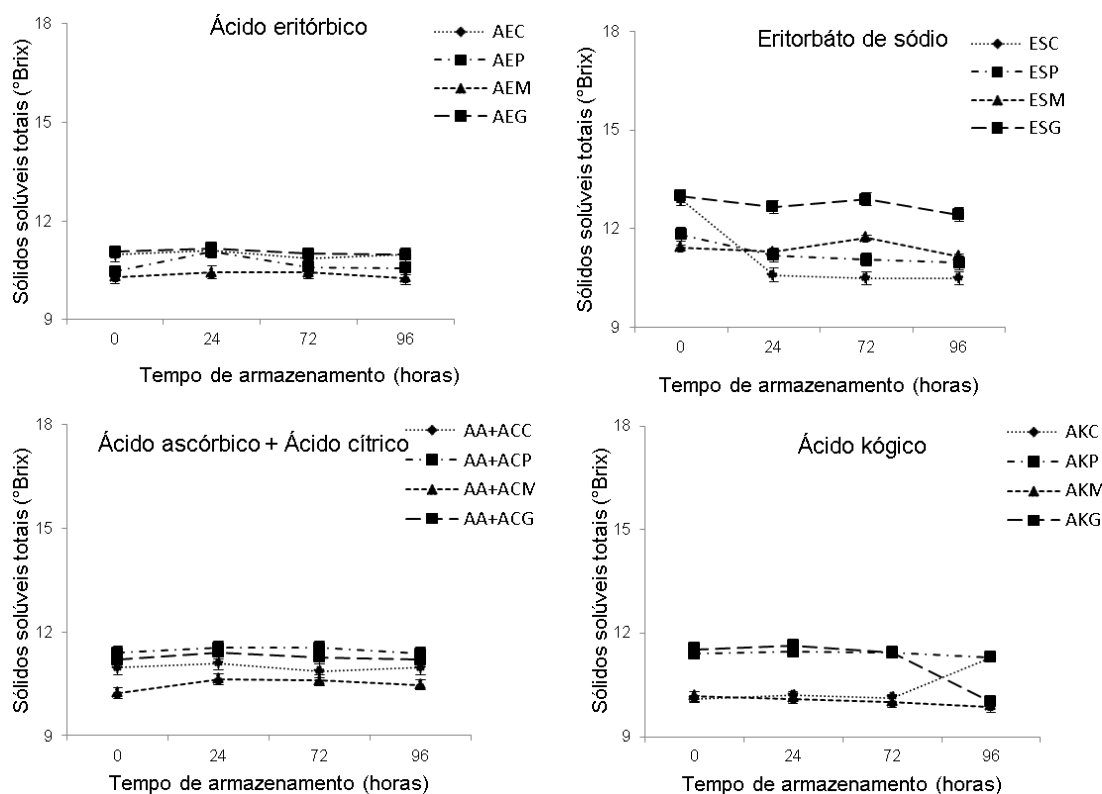


Figura23. Sólidos Solúveis, de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %, eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

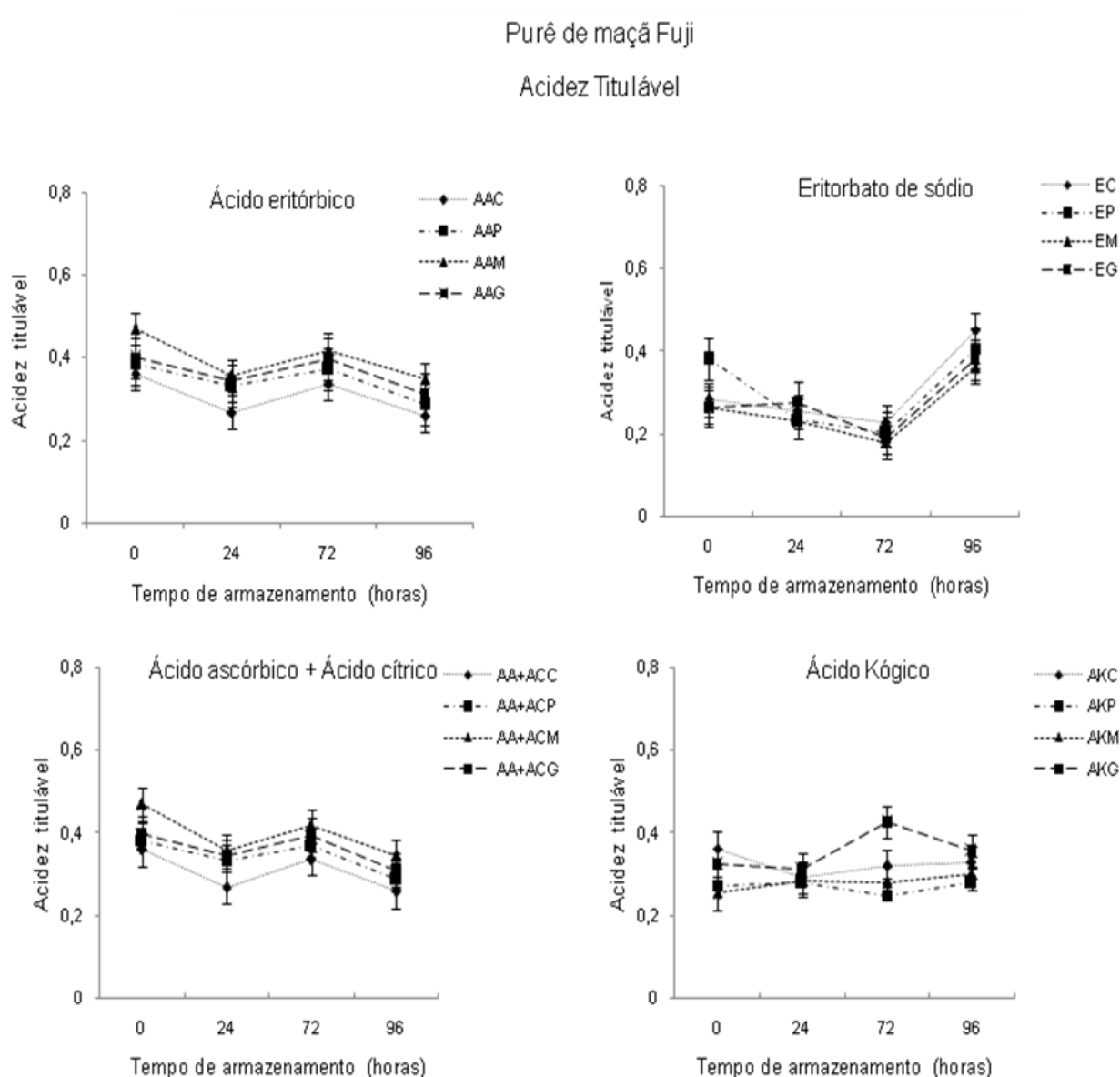


Figura24. Acidez Titulável de purê de maçã da cultivar **Fuji** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbico (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

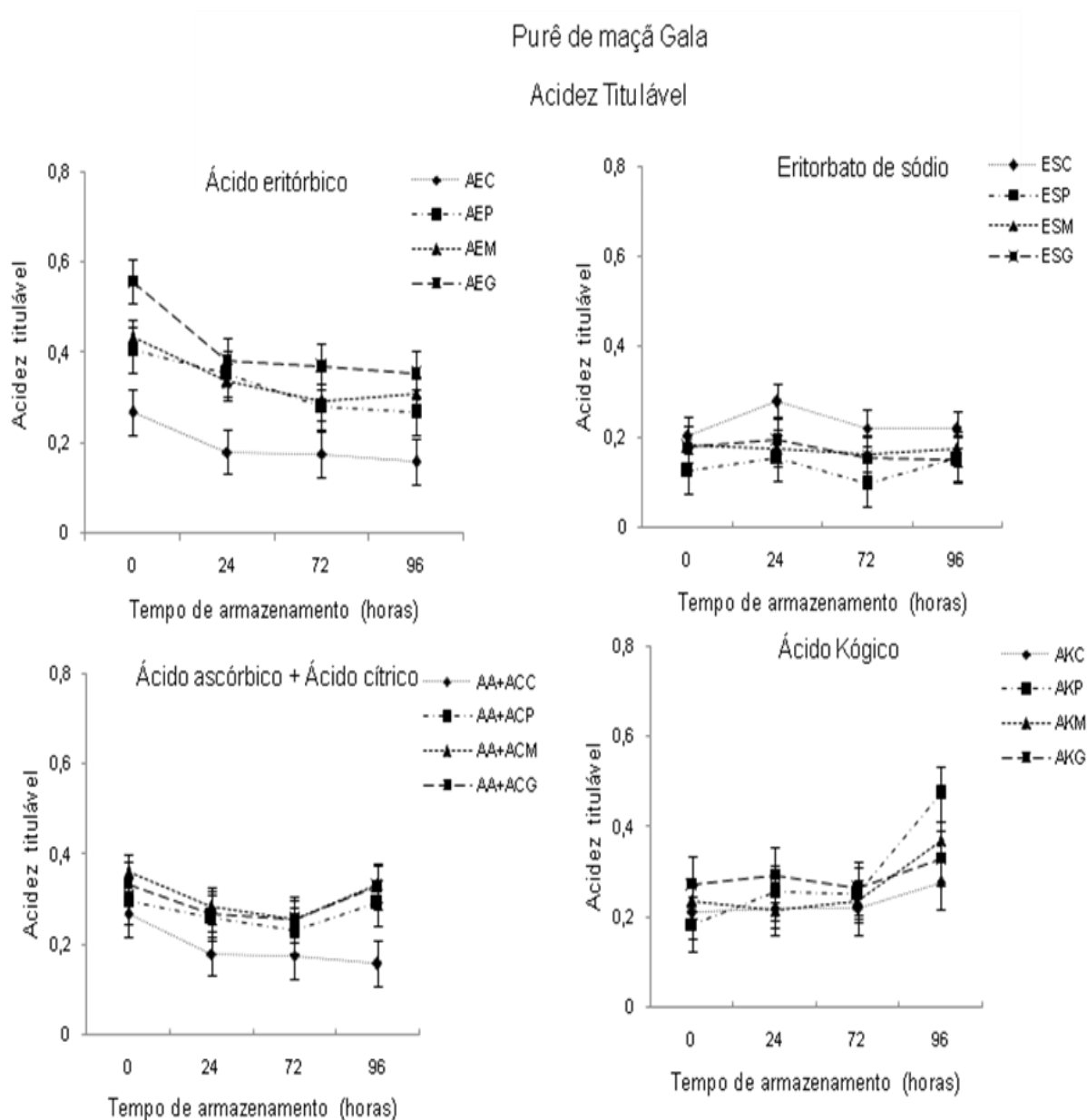


Figura25. Acidez Titulável de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

Sequência de imagens do acompanhamento do efeito dos tratamentos com os antioxidantes nas diferentes concentrações no comportamento dos purês diante do armazenamento.

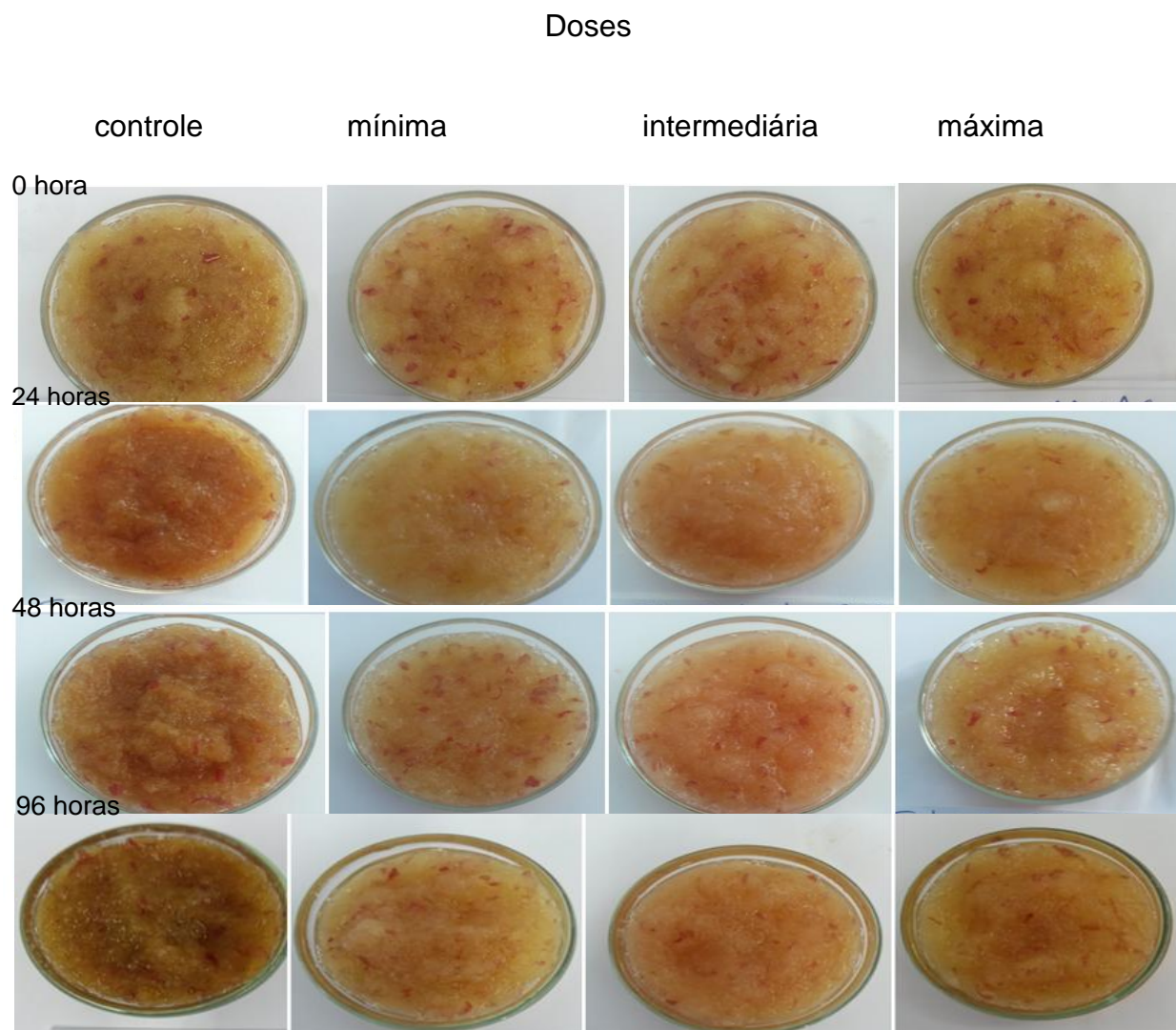


Figura26. Maçã **Fuji** – Tratamento com ácido eritórbito

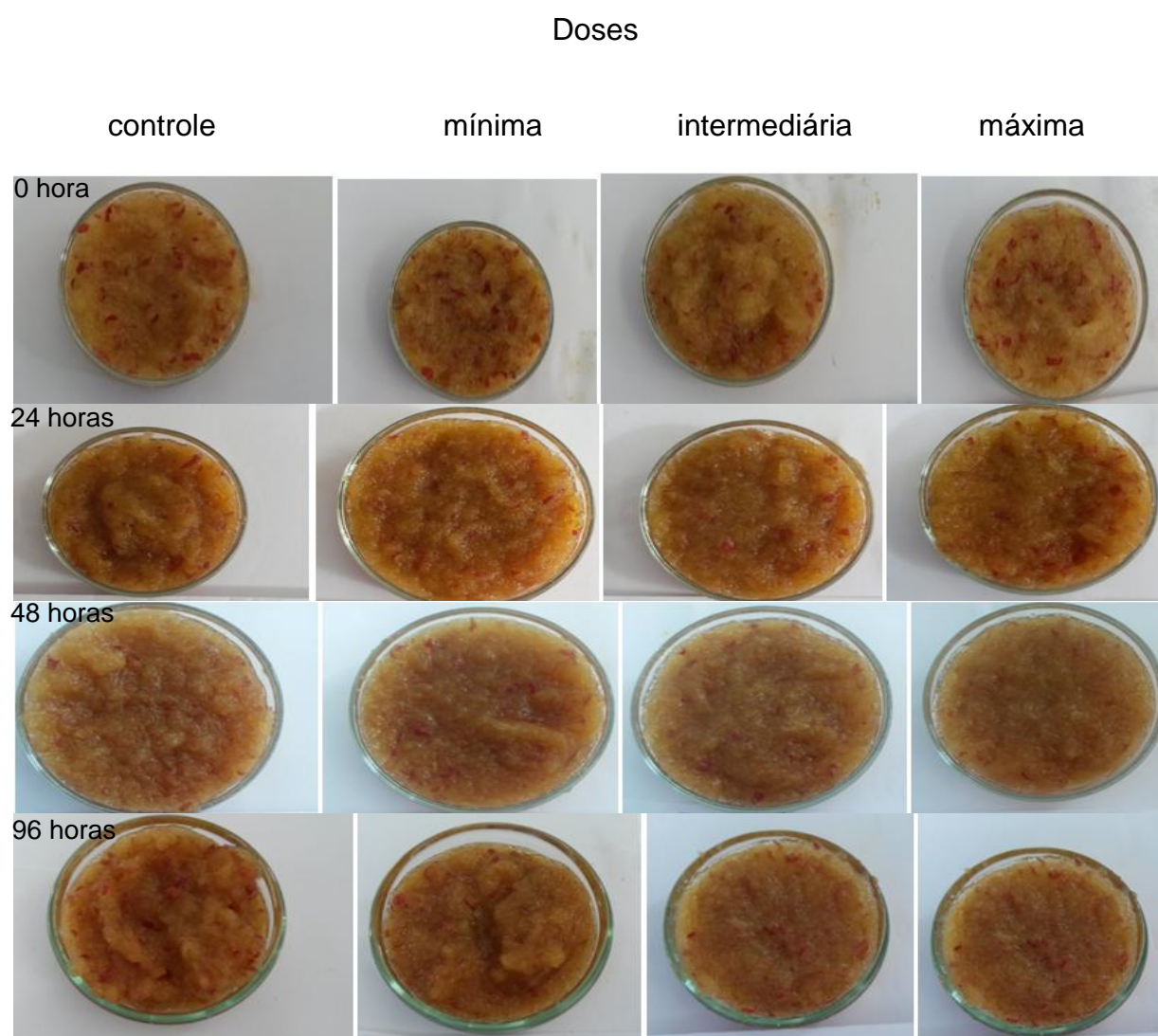


Figura27. Maçã **Fuji** – Tratamento com ácido kóico

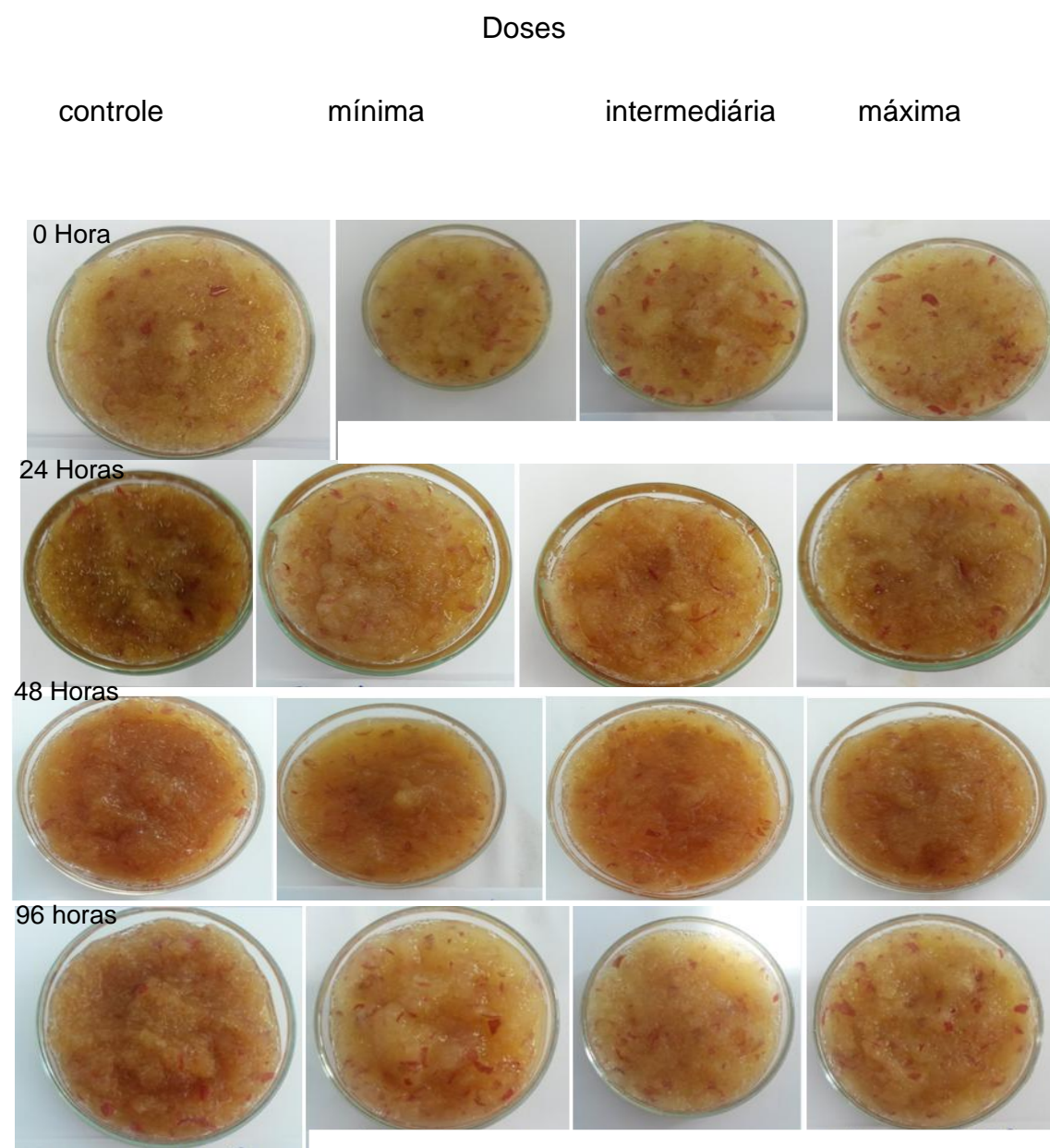


Figura28. Maçã **Fuji** – Tratamento com ácido ascórbico combinado com ácido cítrico

Doses

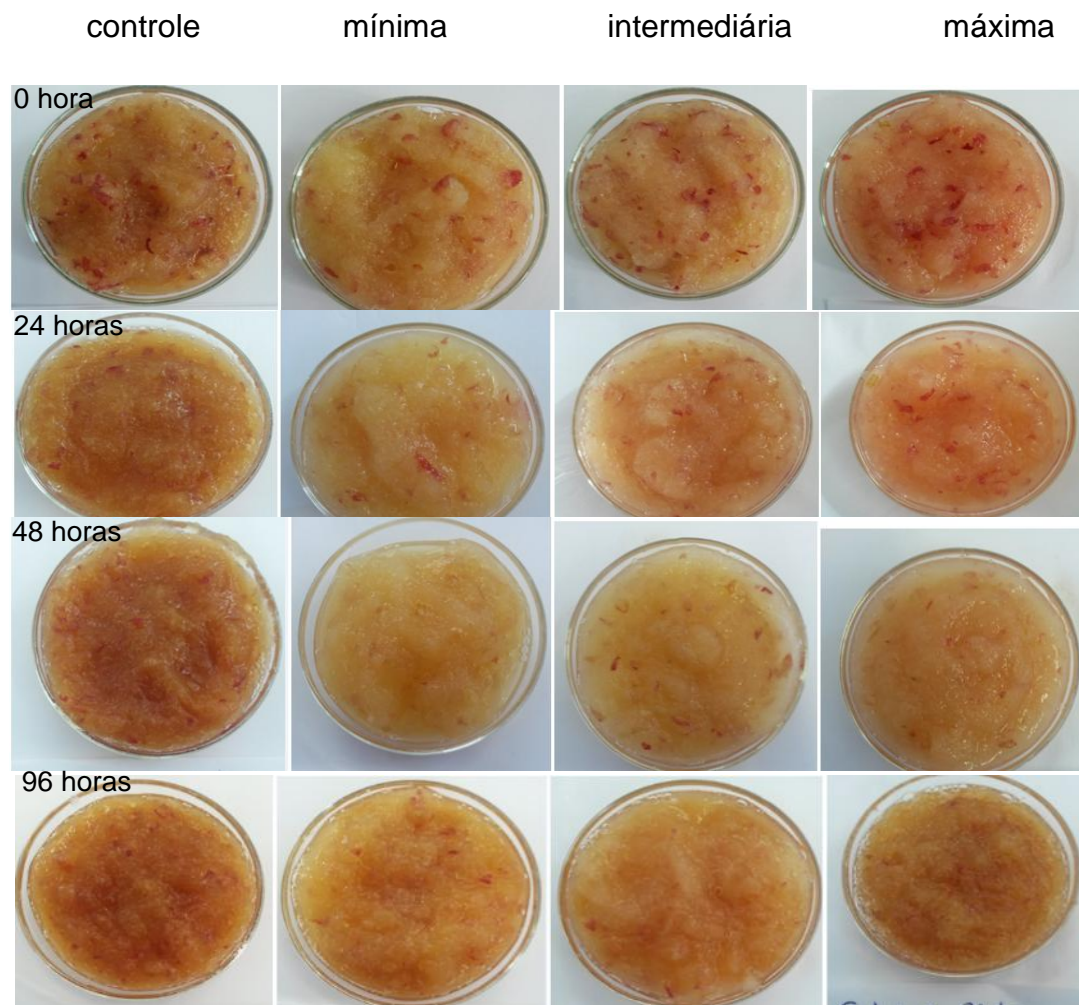


Figura29. Maçã **Gala** – Tratamento com ácido eritórbico

Doses

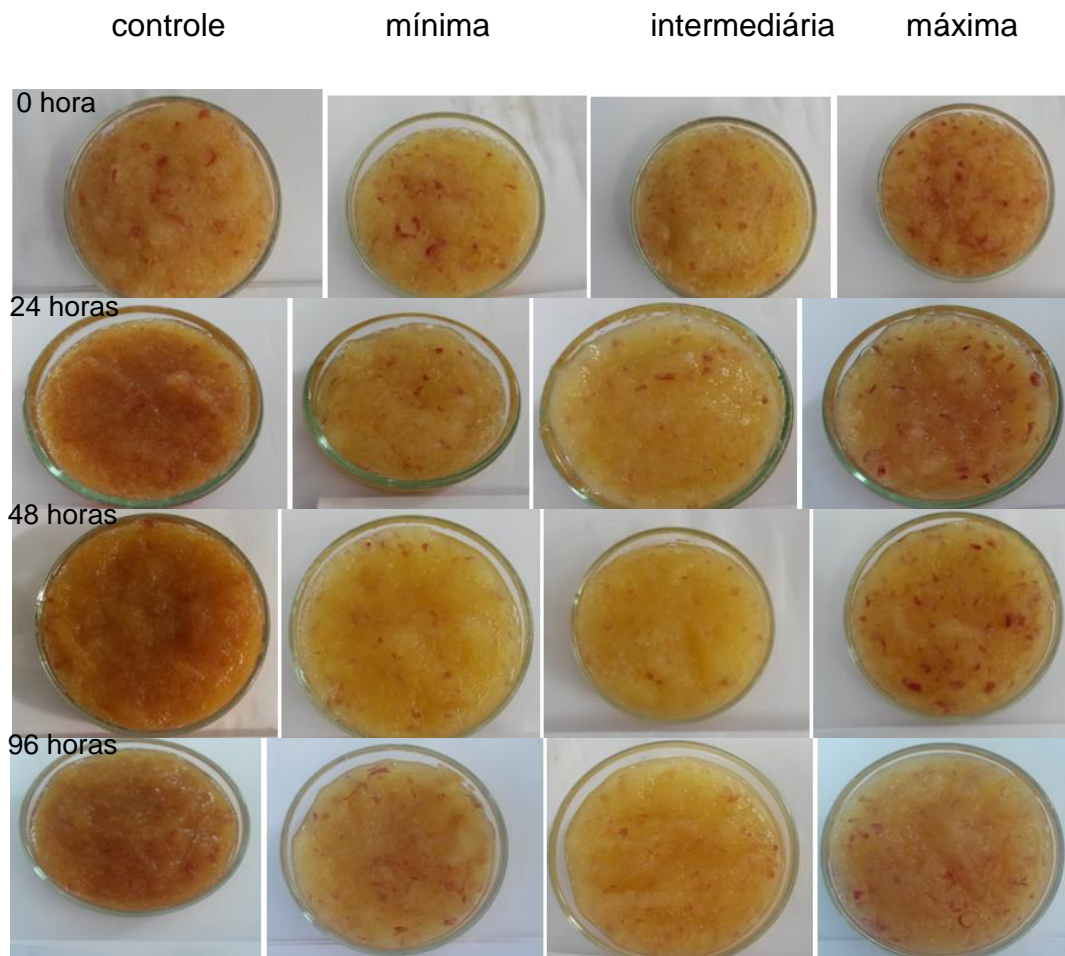


Figura30. Maça **Gala** – Tratamento com eritorbato de sódio.

Doses

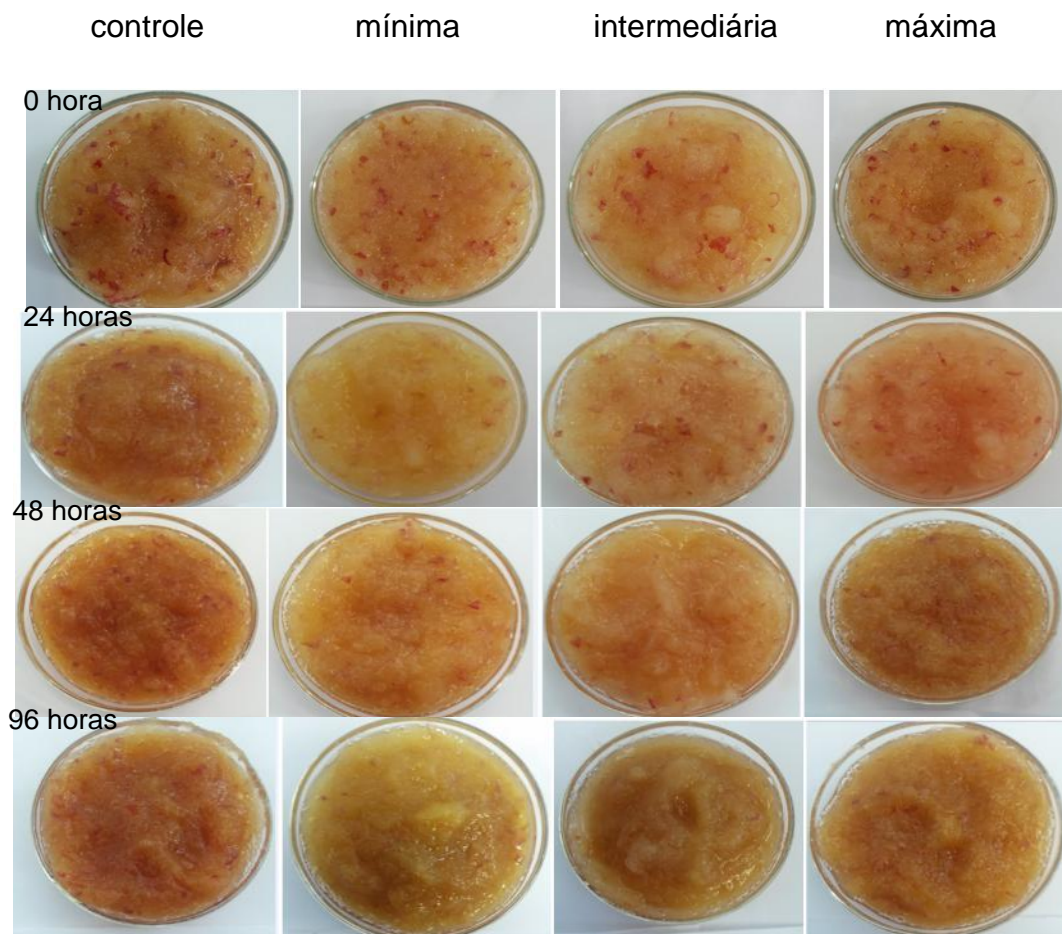


Figura31. Maçã **Gala** – Tratamento com ácido ascórbico combinado com ácido cítrico

Analisando os resultados de minerais (Tab.8) é possível verificar que nas duas cultivares o tratamento com ácido eritórbico causou aumento nos minerais do purê. Sua influência foi mais expressiva na quantidade de cálcio, o que já era esperado, pois as frutas passaram por imersão em solução a 1 % de cloreto de cálcio que, combinado com o uso de agentes antioxidantes, desempenha papel central em sinais celulares relacionadas com atividade do oxigênio e ação enzimática (BHATTACHARJE, 2005). Também foi verificado aumento nos valores do mineral cobre quando as cultivares foram tratadas quimicamente. Esse fato reflete a eficiência dos tratamentos no anti-escurecimento, pois de acordo com o descrito por Nicolas et al. (1994), na reação de escurecimento ocorre a oxidação dos íons de cobre presentes no centro ativo da enzima polifenoloxidase em presença de oxigênio, formando produtos de coloração escura. Possivelmente a ação dos antioxidantes bloquearam a ligação da enzima ao substrato evitando essa oxidação e mantendo o cobre em maior concentração na amostra. Entre as cultivares, constatou-se diferenças na quantidade de minerais, o que segundo Janzantti (2003), pode ser influenciada por fatores naturais (solo e clima), agrônômicos de produção da fruta (cultivares, tratos culturais, adubações, tratamentos fitossanitários, épocas de colheita) e da tecnologia de elaboração.

Tabela 8. Resultados de minerais para purê de maçãs da cultivar **Fuji** e **Gala** avaliadas frente aos melhores tratamentos e doses de antioxidante.

Purê de maçã Fuji								
Tratamentos	Ca gKg ⁻¹	Mg gKg ⁻¹	K gKg ⁻¹	P gKg ⁻¹	Cu mgKg ⁻¹	Fe mgKg ⁻¹	Mn mgKg ⁻¹	Zn mgKg ⁻¹
FC	1,65 B	0,34 B	7,16 A	0,86 B	4,69 B 12,83	NQ	1,03 B	NQ
FAE	2,19 A	0,39 A	7,28 A	1,59 A	A	NQ	1,70 A 1,38	NQ
FES	1,73 B	0,32 B	6,94 A	1,19 A,B	5,09B	NQ	A,B	NQ
Purê de maçã Gala								
GC	2,25 B	0,40 B	6,54 B	1,53 A	6,59 C	NQ	4,01 B	NQ
GAE	3,17 A	0,51A	7,59 A	1,42 A	9,53 A	NQ	5,48 A	NQ
GES	2,26 B	0,42 B	6,21 B	1,33 A	8,75 B	NQ	3,12 C	NQ

Médias acompanhadas por mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan. FC) Maçã **Fuji** controle (sem tratamento); FAE) Maçã **Fuji** tratada com ácido eritórbico 5 %; FES) Maçã **Fuji** tratada com eritorbato de sódio 7 %. GC) Maçã **Gala** controle (sem tratamento); GAE) Maçã **Gala** tratada com ácido eritórbico 5 %; GES) Maçã **Gala** tratada com eritorbato de sódio 7 %. NQ) Não quantificado.

4.2 Características fitoquímicas

Foram identificadas interações significativas duplas entre fatores antioxidante e antioxidante/dose com períodos de armazenamento para todas as variáveis analisadas (Tab. 9 e 10 e Fig. 35-38). Para a interação dupla entre os fatores antioxidante com dose, a variável fenóis apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) na dose controle em todos os tratamentos, com exceção do tratamento ES na cultivar **Fuji**, na qual houve uma equivalência de valores entre as doses. Estes valores estão próximos ao estudo realizado para purê de maçã **Gala** de origem brasileira, $82 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ e maçãs **Fuji** originadas do Japão com valores de $61,8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Tais diferenças podem estar relacionadas com a complexidade e diversidade de estruturas deste grupo de compostos e os métodos de extração e análise utilizados (BRAVO, 1998; KALT et al., 2001). Existem ainda os fatores intrínsecos (gênero, espécie, cultivar) e extrínsecos como o meio ambiente, estocagem e processamento (TOMÁS-BARBERÁN et al., 2001; GAZANNI et al., 1998). Nos tratamentos com AE e ES foi constatada maior concentração de fenóis na dose máxima. Este fato pode ser devido à ação destes compostos como antioxidantes; não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas em virtude de seus radicais intermediários estáveis que impedem a oxidação de vários compostos do alimento (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Nos tratamentos com AK e com AA+AC, nas duas cultivares, não apresentaram diferenças estatísticas, evidenciando pouco efeito desses tratamentos/dose nessa variável.

No teor de DPPH, que reflete a capacidade antioxidante, os tratamentos mais expressivos para esse fitoquímico foram com AE e ES nas doses intermediárias e máxima. Formados a partir do metabolismo secundário das plantas, os compostos fenólicos, como os flavonoides, ácidos fenólicos e os taninos, são importantes para o seu crescimento e reprodução. Esses compostos também são formados sob algumas condições adversas como injúrias e radiação ultravioleta entre outros (BATTESTINI et al., 2004).

Tabela 9. Resultados de Fenóis e DPPH para purê de maçãs da cultivar **Fuji** avaliada frente aos tratamentos e doses de antioxidante.

Purê de maçã Fuji								
Antioxidantes	Dose							
	Controle		Mínima		Intermediária		Máxima	
	Fenóis (mg GAE/100g)							
AE	71,98	aC	117,8	aB	133,28	aAB	139,01	aA
AK	64,45	aA	70,26	bA	62,17	cA	64,53	cA
ES	64,56	aA	60,22	bA	62,65	cA	63,12	cA
AA+AC	71,98	aB	96,58	aA	99,70	bA	97,80	bA
	DPPH (mg/100g)							
AE	61,82	bC	188,2	aB	276,26	aA	255,42	aA
AK	94,10	aA	58,94	cB	96,76	cA	90,86	cA
ES	60,19	bB	103,8	bB	206,55	bA	186,72	bA
AA+AC	61,62	bA	79,12	cA	71,60	cA	70,67	cA

Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as doses dentro de cada antioxidante e os antioxidantes em cada dose, respectivamente. **AE)** ácido eritórbito; **AK)** ácido kójico; **ES)** eritorbato de sódio e **AA+AC)** ácido ascórbico combinado com ácido cítrico. **Doses:** AE (mínima = 3 %, intermediária = 5 % e máxima = 7 %); AK (mínima = 0,07 %, intermediária = 0,09 % e máxima = 1,1 %); ES (mínima = 5 %, intermediária = 7 % e máxima = 9 %); e AA+AC (mínima = 0,5 % + 0,1 % ácido cítrico, intermediária = 0,5 % + 0,3 % ácido cítrico, máxima = 0,5 % + 0,5 % ácido cítrico).

Tabela 10. Resultados de Fenóis e DPPH para purê de maçãs da cultivar **Gala** avaliada frente aos tratamentos e doses de antioxidante.

Purê de maçã Gala								
Antioxidantes	Dose							
	Controle		Mínima		Intermediária		Máxima	
	FENÓIS (mg GAE/100g)							
AE	61,80	aB	110,56	aA	113,90	AA	116,92	aA
AK	44,19	aA	46,46	bA	63,31	Ca	57,92	cA
ES	51,22	aA	120,20	aB	128,27	aAB	133,75	aA
AA+AC	61,78	aB	100,51	aA	87,26	BA	92,21	bA
	DPPH (mg/100g)							
AE	43,24	cD	95,93	aC	148,80	aB	207,85	aA
AK	30,48	cB	71,90	bAB	43,77	bAB	86,91	bA
ES	69,10	aC	71,30	bC	160,95	AA	109,00	bB
AA+AC	43,24	bB	65,76	bA	45,12	BB	55,26	cAB

Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as doses dentro de cada antioxidante e os antioxidantes em cada dose, respectivamente. **AE)** ácido eritórbito; **AK)** ácido kójico; **ES)** eritorbato de sódio e **AA+AC)** ácido ascórbico combinado com ácido cítrico. **Doses:** AE (mínima = 3 %, intermediária = 5 % e máxima = 7 %); AK (mínima = 0,07 %, intermediária = 0,09 % e máxima = 1,1 %); ES (mínima = 5 %, intermediária = 7 % e máxima = 9 %); e AA+AC (mínima = 0,5 % + 0,1 % ácido cítrico, intermediária = 0,5 % + 0,3 % ácido cítrico, máxima = 0,5 % + 0,5 % ácido cítrico).

Houve efeito positivo dos tratamentos na concentração de fenóis em relação ao controle. Segundo Martín-Belloso e Soliva-Fortuny (2006), o tipo e a concentração do substrato fenólico afetam diretamente o escurecimento enzimático; tendo sido os tratamentos ES e AE os que apresentaram maior concentração de compostos fenólicos e, conseqüentemente, os tratamentos que foram mais eficazes na redução do escurecimento nos purês. Aguayo et al. (2010), também verificaram diferenças de comportamento do controle em relação ao tratamento com antioxidantes em fatias de maçãs; também perceberam que o tratamento com altas concentrações de ascorbato de cálcio (12 % e 20 %) tendem a reduzir o teor de fenólicos totais.

Oszmianski et al. (2008), estudaram a variação dos compostos fenólicos em purês de maçãs das cultivares **Shampion** e **Idared**, com diferentes tempos de armazenamento, verificando que o conteúdo de compostos fenólicos total se comportou diferentemente, dependendo do armazenamento, tempo e método de preparação da purê. Na capacidade antioxidante para o tratamento AE, nas duas cultivares, foi observado maior efeito em todo período de armazenamento; enquanto para o ES, foram verificados valores maiores. Entretanto, no último dia de armazenamento, não houve diferenças estatísticas. Resultados similares para acompanhamento da atividade antioxidante, diante de tratamento com antioxidantes, foi verificado por Aguayo et al. (2010), no qual observaram que a atividade antioxidante em fatias de maçãs foi reduzida no decorrer dos 28 dias de armazenamento.

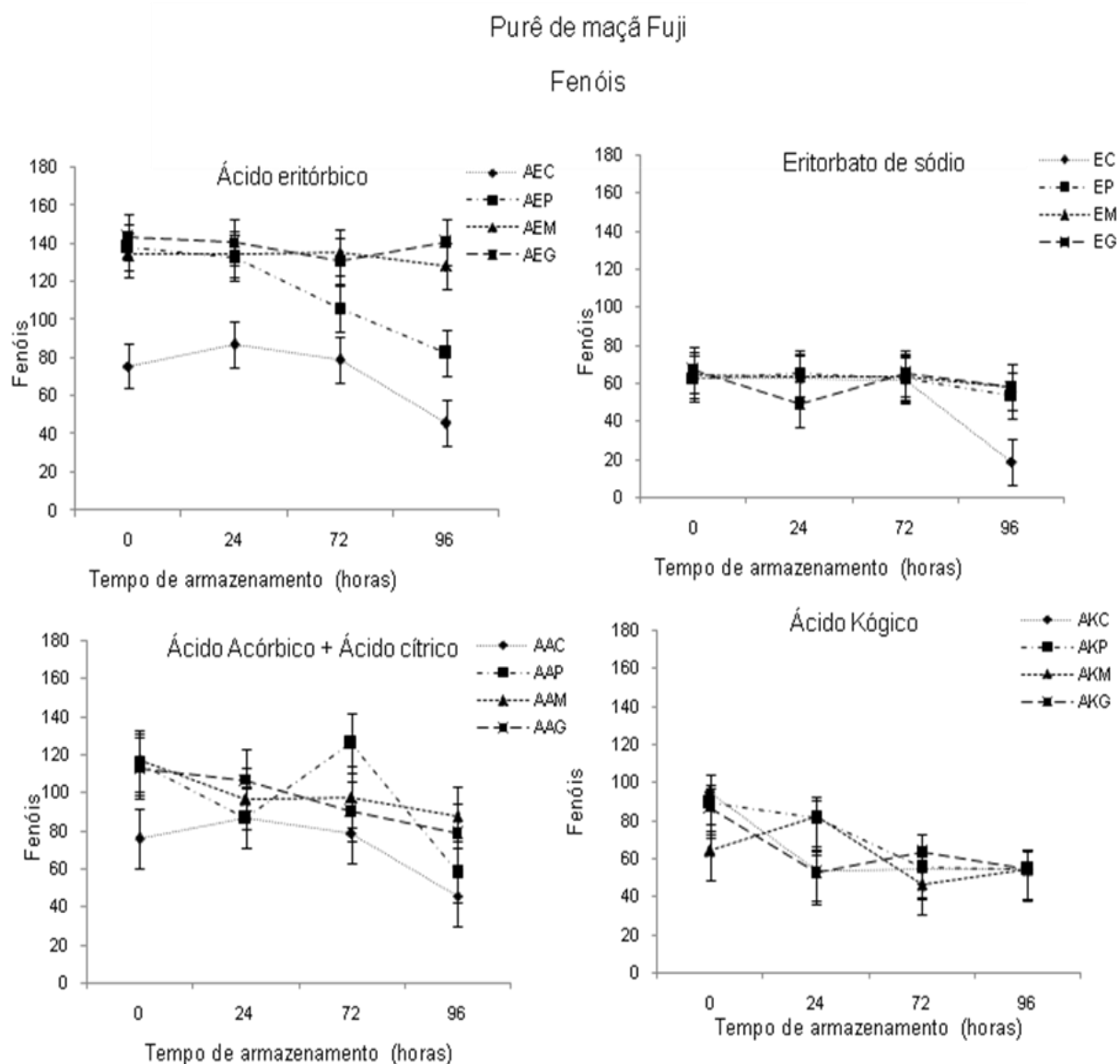


Figura32. Fenóis de purê de maçã da cultivar **Fuji** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

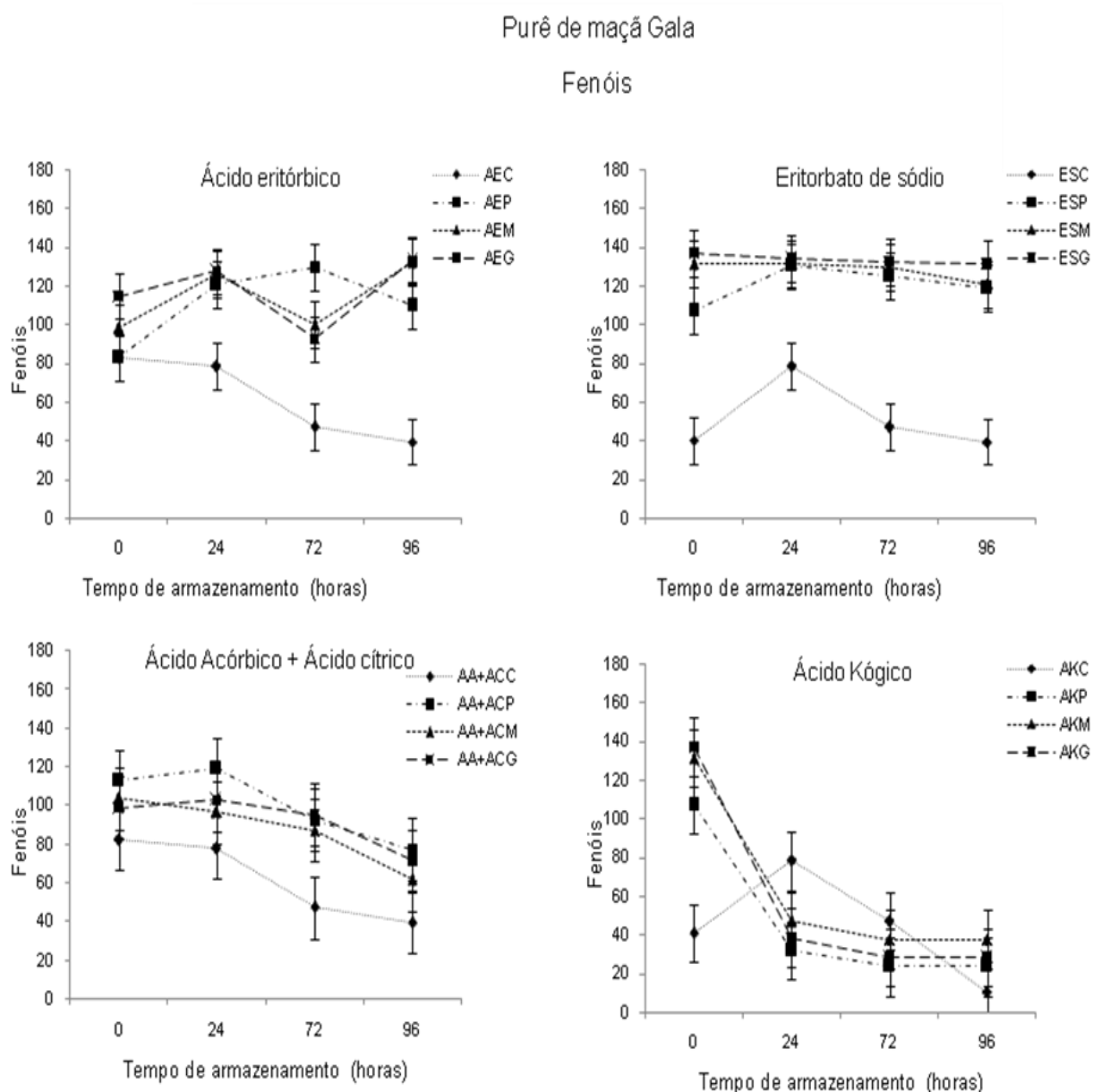


Figura33. Fenóis de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

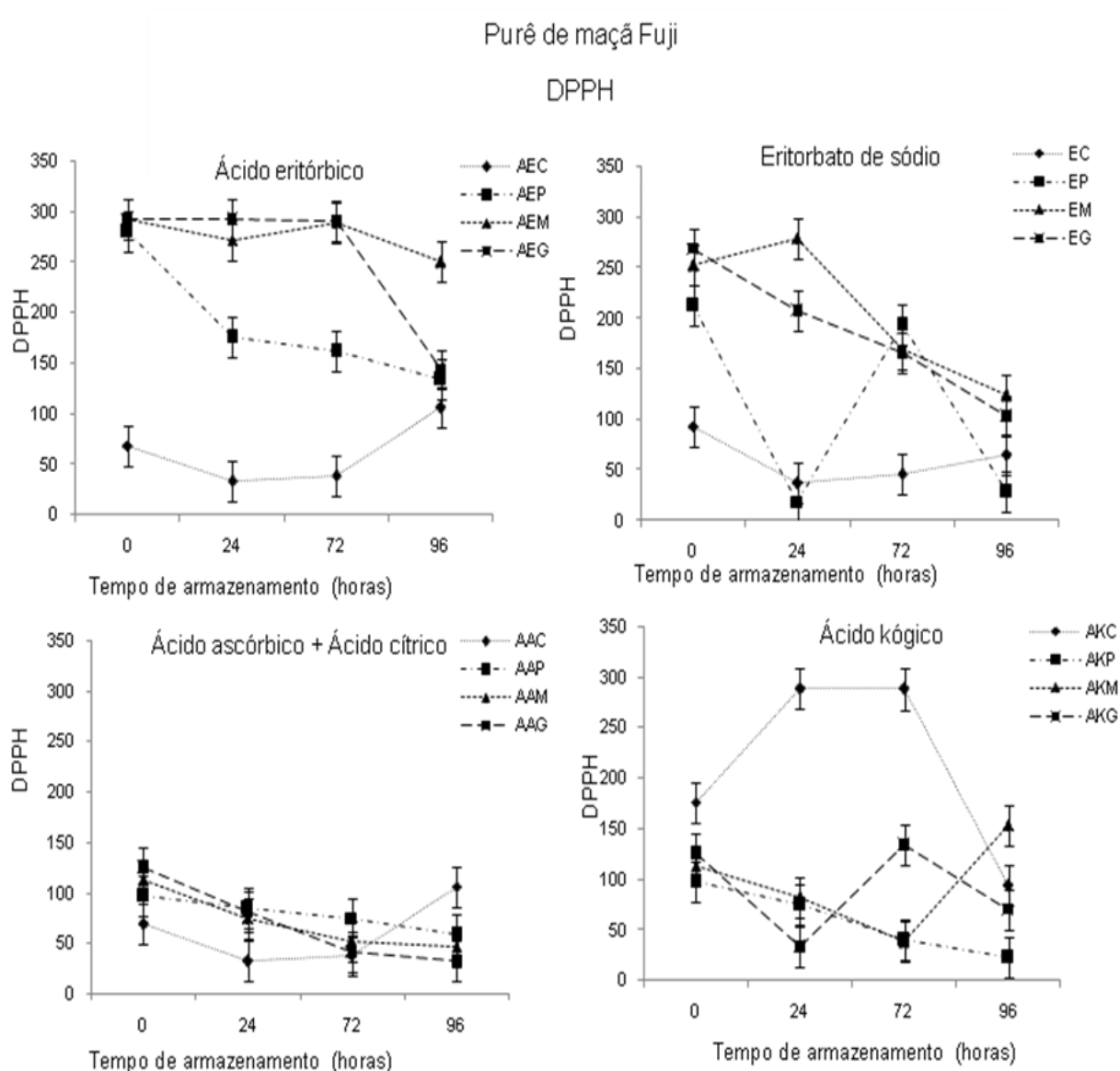


Figura34. DPPH de purê de maçã da cultivarFuji tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

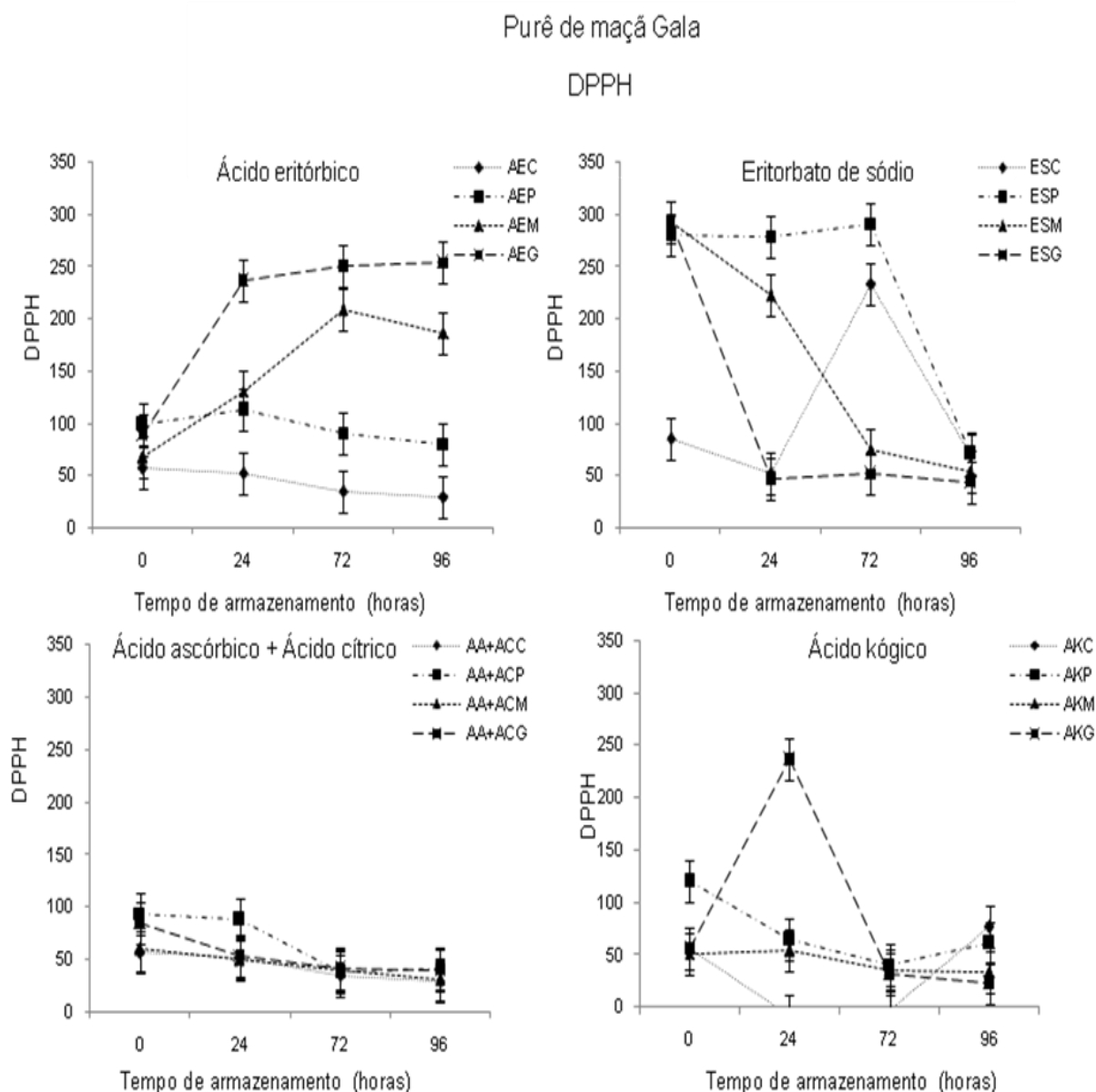


Figura35. DPPH de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

4.3 Inativação Enzimática

Interações significativas duplas entre fatores antioxidante com dose e antioxidante/dose com períodos de armazenamento para todas as variáveis

analisadas foram observadas (Tab. 11 e 12 e Fig. 48 - 51). Em todos os tratamentos foi possível perceber redução na ação enzimática tanto da Peroxidase (PO) quanto da Polifenoloxidase (PFO), o que é de extrema relevância nesse estudo, visto que o objetivo central é retardar a ação dessas enzimas, mantendo o produto por mais tempo com suas características físicas mais próximas ao natural.

Comparando tratamento e fixando a dose para inativação da enzima peroxidase, foi observado que, em ambas as cultivares, em todas as doses tratadas com antioxidante, o tratamento AK e o AA+AC apresentaram diferença estatística em relação aos demais, apresentando menor inibição da enzima. Isto era esperado, haja vista que nas variáveis físico-químicas de cor, foi observado esse mesmo comportamento. Nesses tratamentos, a inativação da enzima polifenoloxidase ocorreu de forma semelhante, apresentando a menor porcentagem de inibição.

Comportamento similar foi observado por YaguangLuo et al. (2001) na avaliação da inibição da PFO com o uso de ácido cítrico, dentre outros acidulantes, em maçãs **RedDelicious**, onde perceberam que esse tratamento, comparado aos demais, não foi tão eficaz, obtendo 20 % de inibição.

Nos tratamentos com AE e ES, os resultados foram extremamente promissores, pois houve redução enzimática expressiva nas duas cultivares. Ao comparar as doses e fixar os tratamentos o melhor efeito sobre a cultivar **Fuji** foi com as doses mínimas e intermediárias; enquanto que na **Gala** o resultado foi significativo para dose intermediária, com inibição de aproximadamente 70 % na PO e aproximadamente 50 % na PFO, quando tratada com ES.

Sulaiman et al. (2015), ao testar inativação enzimática, frente ao tratamento com ultrassom em temperaturas próximas a 50 °C em purês de maçã da cultivar **Gala**, obtiveram inibição de PPO cerca de 60 %.

Tabela 11. Inativação enzimática de Peroxidase e Polifenoloxidase em purês de maçã da cultivar **Fuji** frente a tratamentos e doses.

Antioxidantes		Purê de maçã Fuji								
		Dose								
		Controle		Mínima		Intermediária		Máxima		
		PO (% Inibição)								
AE	0	aB	71,69	aA	65,73	aA	64,93	aA		
AK	0	aB	16,76	cA	17,23	bA	6,50	dB		
ES	0	aB	57,10	bA	59,70	aA	49,75	bA		
AA+AC	0	aB	29,54	cA	27,66	bA	26,70	cA		
		PPO (% Inibição)								
		AE	0	aB	60,93	aA	55,89	aA	51,82	aA
		AK	0	aC	40,84	bB	54,86	aA	57,17	aA
		ES	0	aB	43,21	bA	54,99	aA	58,92	aA
		AA+AC	0	aB	35,04	bA	27,55	bA	31,60	bA

Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as doses dentro de cada antioxidante e os antioxidantes em cada dose, respectivamente. AE) Ácido Eritórbico; AK) Ácido Kójico; ES) Eritorbato de Sódio e AA+AC) Ácido ascórbico combinado com ácido cítrico. **Doses:** AE (mínima = 3 %; intermediária = 5 % e máxima = 7 %); AK (mínima = 0,07%, intermediária = 0,09 % e máxima = 1,1 %); ES (mínima = 5 %, intermediária = 7 % e máxima = 9 %); e AA+AC (mínima = 0,5 % + 0,1 % ácido cítrico, intermediária = 0,5 % + 0,3 % ácido cítrico, máxima = 0,5 % + 0,5 % ácido cítrico). **PPO** - polifenoloxidase; **PO** - peroxidase.

Tabela 12. Inativação enzimática de Peroxidase e Polifenoloxidase em purês de maçã da cultivar **Gala** frente a tratamentos e doses.

Antioxidantes		Purê de maçã Gala								
		Dose								
		Controle		Mínima		Intermediária		Máxima		
		PO (% Inibição)								
AE	0	aD	19,89	bB	67,23	abA	13,49	bBC		
AK	0	aC	65,95	aA	55,13	bAB	31,77	bB		
ES	0	aD	29,77	bC	88,05	aA	72,31	aB		
AA+AC	0	aD	70,18	aA	13,55	bC	24,21	bBC		
		PPO (% Inibição)								
		AE	0	aC	19,39	abB	54,18	aA	41,71	aA
		AK	0	aB	30,27	aA	42,77	aA	51,44	aA
		ES	0	aD	16,13	bC	52,63	aA	35,9	abB
		AA+AC	0	aB	18,48	abA	21,72	bA	19,27	bA

Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) comparando as doses dentro de cada antioxidante e os antioxidantes em cada dose, respectivamente. AE) Ácido Eritórbico; AK) Ácido Kójico; ES) Eritorbato de Sódio e AA+AC) Ácido ascórbico combinado com ácido cítrico. **Doses:** AE (mínima = 3 %; intermediária = 5 % e máxima = 7 %); AK (mínima = 0,07%, intermediária = 0,09 % e máxima = 1,1 %); ES (mínima = 5 %, intermediária = 7 % e máxima = 9 %); e AA+AC (mínima = 0,5 % + 0,1 % ácido cítrico, intermediária = 0,5 % + 0,3 % ácido cítrico, máxima = 0,5 % + 0,5 % ácido cítrico). **PPO** - polifenoloxidase; **PO** - peroxidase.

O efeito do tratamento com AE e com ES, na dose intermediária, sobre o período de armazenamento, tanto para PO quanto para PFO, nas duas cultivares, apresentou maior redução enzimática quando comparado aos demais. No tratamento com AA+AC, fixando cultivares, observou-se divergência no comportamento, pois em **Fuji**, na dose intermediária, houve menor redução enzimática, enquanto em **Gala** esse efeito foi mais expressivo para dose máxima. Nessa avaliação enzimática justifica-se a pausa no período de avaliações ter sido em 96 horas visto que nesse tempo as ações enzimáticas estavam reduzidas. Chiabrando e Giacalone (2012), ao estudar o efeito do uso de agente antioxidante na redução da atividade enzimática, quando utilizaram ácido ascórbico 1 % e ácido cítrico 1 % combinados com cloreto de cálcio e atmosfera controlada, em maçãs de diferentes cultivares, perceberam maior redução da ação enzimática no quinto dia de armazenamento do fruto.

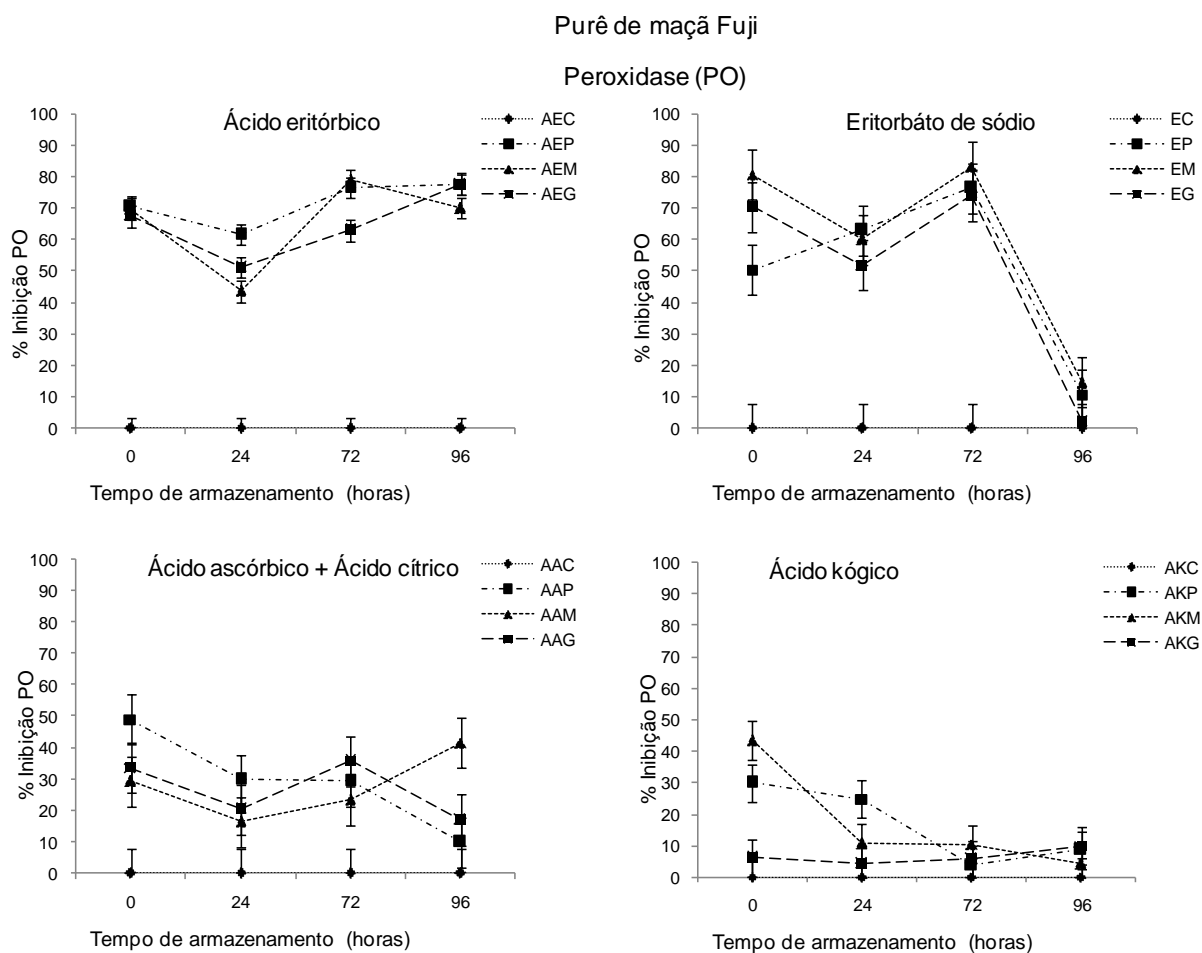


Figura36. Inibição da peroxidase de purê de maçã da cultivar **Fuji** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %, eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

Purê de maçã Gala

Peroxidase (PO)

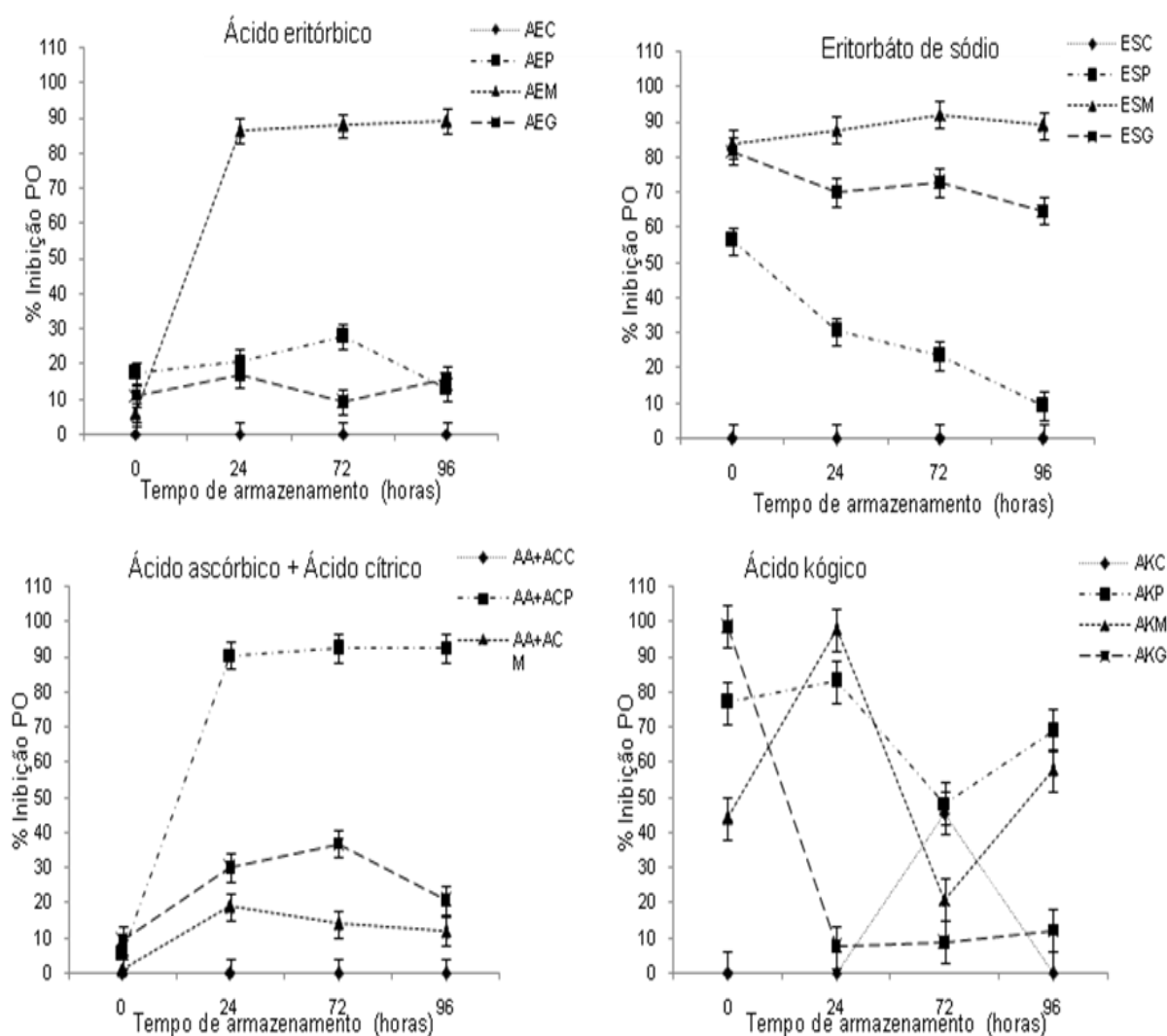


Figura37. Inibição da peroxidase de purê de maçã da cultivar **Gala** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %), eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

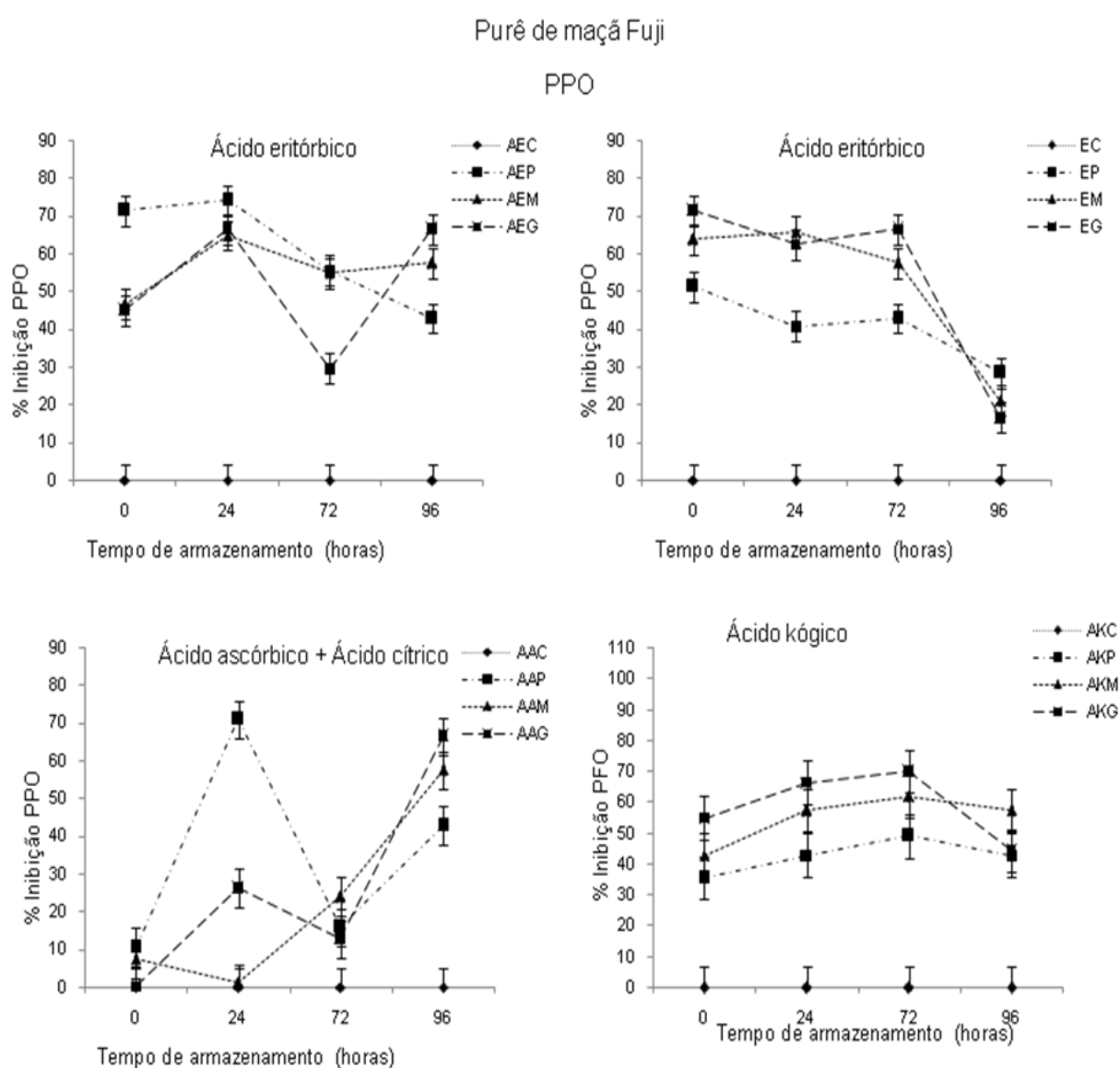


Figura38. Inibição da polifenoloxidase de purê de maçã da cultivar **Fuji** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %, eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

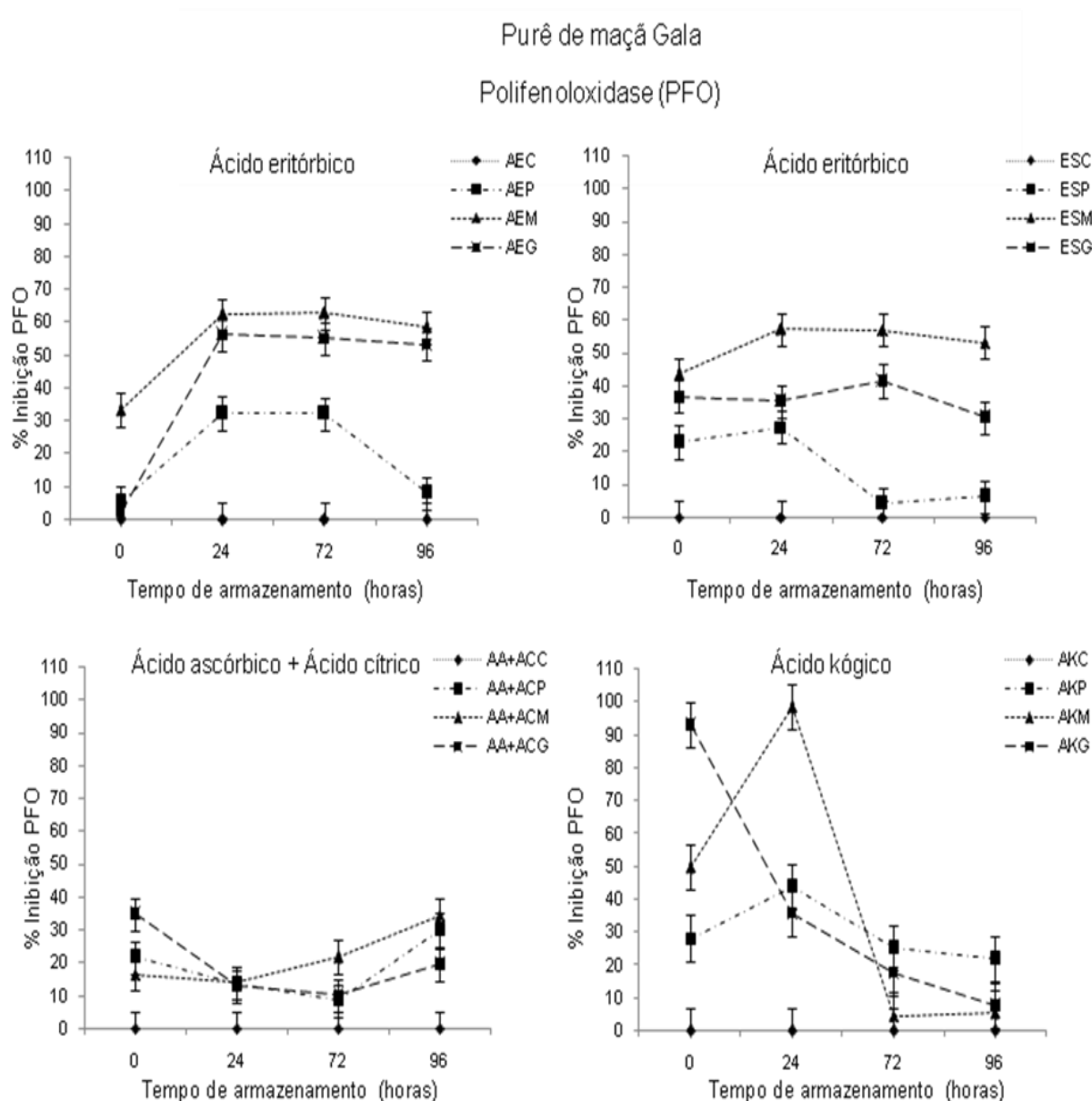


Figura39. Inibição da polifenoloxidase de purê de maçã da cultivar **Fuji** tratada com antioxidante e CaCl_2 durante armazenamento refrigerado (4°C). O purê foi obtido de maçã fatiada (16 fatias) e tratada por imersão, durante 10 min, em solução contendo CaCl_2 (1%) e diferentes antioxidantes em três diferentes concentrações (mínima, intermediária e máxima): ácido eritórbito (AE) a 3 %, 5 %, 7 %, eritorbato de sódio (ES) a 3 %, 5 %, 7 %, ácido kójico (AK) a 0,07 %, 0,09 %, 1,10 %, e ácido ascórbico combinado com ácido cítrico (AA+AC) a 0,5 % + 0,1 %, 0,5 % + 0,3 %, 0,5 % + 0,5 %. Onde: C = controle, P = dose inferior, M = dose média, G = dose superior.

4. Análise sensorial

De acordo com a Fig. 50, foi observado que independentemente da cultivar, 94 % dos avaliadores perceberam alteração de sabor no purê, quando foram utilizados os tratamentos com o ES 7 % e AE 5 % em relação ao controle. Avaliando-se os comentários obtidos nas fichas dos provadores houve tendência à percepção de sabor próxima ao de remédio, sabor adocicado e adstringência, quando a maçã foi tratada com ES 7 %. Essas sensações podem estar relacionadas com o alto teor de compostos fenólicos nesses tratamentos conforme observado na Tabela 9, visto que, sensorialmente, contribuem com as características relacionadas à cor e sabor (amargo e adstringente). No tratamento com AE 5 %, as percepções foram de acidez elevada. Estudos realizados por Pikizota e Sapers (2005) sobre o efeito de eritorbato de sódio 2 % e ácido ascórbico 2 % no escurecimento em fatias de maçãs das cultivares **Fuji** e **Granny Smith** revelam que, para algumas amostras, os provadores perceberam sabor amargo e ácido nas frutas, o que segundo os autores poderia estar relacionado às concentrações de oxigênio em declínio nas mesmas, provocando uma mudança na respiração com concomitante produção de ésteres de etanol e acetato. Diante disso, os autores perceberam que ocorrem alterações de sabor no purê de maçã quando tratado quimicamente com os dois antioxidantes.

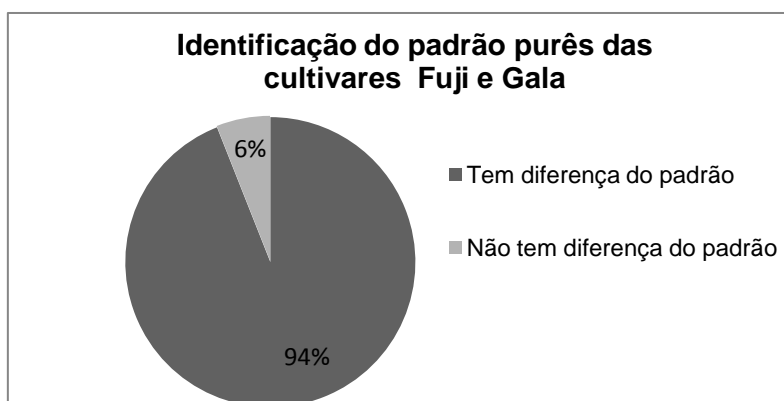


Figura 40. Teste Duo-Trio para avaliação de sabor, em purês de maçã elaborados com eritorbato de sódio 7% e ácido eritórbito 5% das cultivares **Fuji** e **Gala**.

Para o teste de comparação pareada, independentemente da diferença do número de provadores entre as duas cultivares, ocorreu o mesmo comportamento. Na Tabela 11 foi possível perceber que, em nível de 1 % de

significância (ABNT: NBR 13088, 1994), percebeu-se diferença no sabor entre os tratamentos.

Tabela 13. Teste de comparação pareada para avaliação da diferença de sabor entre os tratamentos com eritorbato de sódio 7 % e ácido eritórbito 5 % em purês de maçã das cultivares **Fuji** e **Gala**.

Purê das Cultivares	Número de Avaliações	Percepção de diferença	Número tabelado ao nível de 1% de significância
Fuji	70	68	44
Gala	74	72	46

Foi utilizada a ficha (apêndice 2) para verificar o tratamento que menos alterou o sabor dos purês. Conforme a Fig. 44, foi observado, em nível de 5 % de significância (ABNT: NBR 13088, 1994), que os provadores apontaram o tratamento com eritorbato de sódio 7 % como sendo o que conferiu menor alteração no sabor nos purês. Nas observações obtidas a partir das fichas de avaliação dos provadores, foi verificada diferença de sensação entre as cultivares, visto que na cultivar **Gala**, houve maior variação nas sensações registradas. Os avaliadores perceberam sensação de adstringência e maior acidez, quando a fruta foi tratada com ácido eritórbito 5 %, o que também foi percebido no tratamento com eritorbato de sódio 7 %. Entretanto, nesse tratamento houve tendência a uma sensação mais leve (menos intensa) e mais doce. Na cultivar **Fuji** as sensações foram mais objetivas, visto que 70 % dos provadores identificaram sabor ácido mais intenso, quando o purê foi tratado com ácido eritórbito 5 % e mais doce (menos ácido) quando tratado com eritorbato de sódio 7 %. Estas sensações apontadas pelos provadores, corroboraram com os dados obtidos para essa cultivar nas análises de pH e acidez total titulável (Tabela 3). O teor de sólidos solúveis foi maior no tratamento com eritorbato de sódio, justificando a sensação mais adocicada percebida pelos provadores. Cerda et al. (2012), avaliaram o efeito das sensações sobre o sabor de maçãs (doces ou azedo), enquanto Del Carmen et al. (2013), estudaram o quanto o grau de doçura, juntamente com outros fatores, como ausência de danos, grau de maturação (percentagem de amarelo da cor da casca) e preço influenciavam na preferência da cultivar de maçã. Ambos os estudos demonstraram que o sabor da fruta, especialmente doçura, desempenha um papel importante nas preferências dos consumidores.

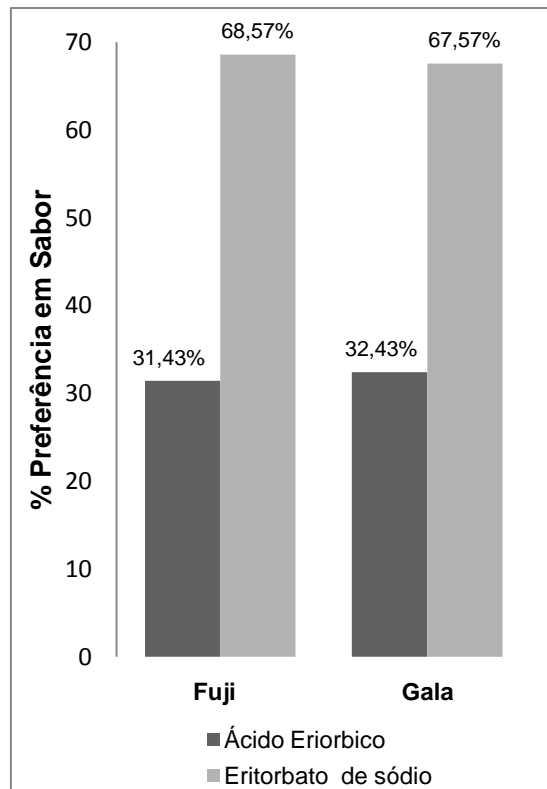


Figura41. Preferência em sabor dos purês tratadas com ácido eritórbito 5 % e eritorbato de sódio 7 % nas cultivares **Fuji** e **Gala**.

De acordo com o valor tabelado para significância no teste de comparação pareada ao nível de 5 % de significância (ABNT: NBR 13088, 1994) do total de 90 avaliadores, 55 deles indicaram a cultivar **Fuji** como a preferida, quando foi utilizado o mesmo tratamento com eritorbato de sódio 7 % nas duas cultivares. Um dos fatores que podem ter influenciado esse resultado foi o fato de que este antioxidante ajuda a melhorar a estabilidade do sabor de maneira similar à vitamina C, componente naturalmente presente na fruta. Observando o somatório dos 4 primeiros níveis da escala hedônica utilizada foi verificado tendência maior para aceitação de preferência em sabor para a cultivar **Fuji**, onde cerca de 27 % dos avaliadores indicaram que gostaram muito do purê dessa cultivar, comparado com os purês da cv. **Gala**, que obteve somente 12 % da preferência (Figura 53). Avaliando os quatro últimos níveis foi possível perceber que a maioria dos avaliadores desgostaram ligeiramente da cultivar **Gala** (16 %) em relação a cultivar **Fuji** (12 %) (Figura 54).

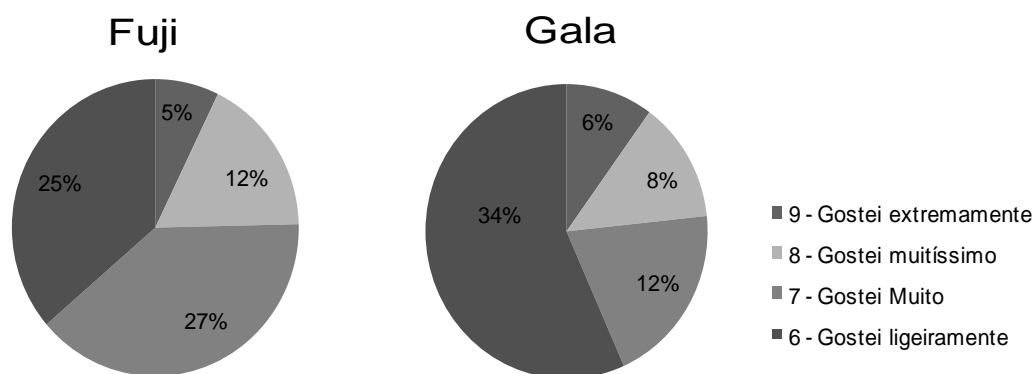


Figura42. Somatório dos quatro primeiros níveis da escala hedônica para avaliação da influência do sabor nos purês tratadas com ácido eritórbito 5 % e eritorbato de sódio 7 % das cultivares **Fuji** e **Gala**.

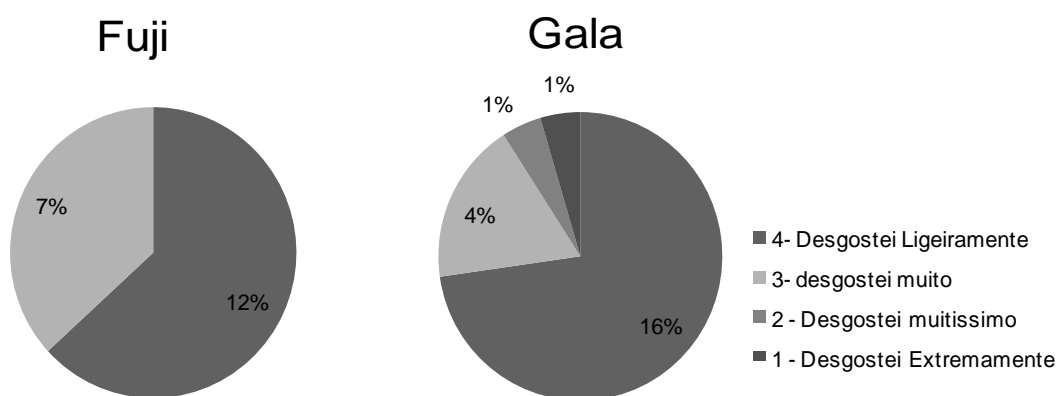


Figura43. Somatório dos quatro últimos níveis da escala hedônica para avaliação da influência do sabor nos purês tratadas com ácido eritórbito 5 % e eritorbato de sódio 7 % das cultivares **Fuji** e **Gala**.

Corollaro et al. (2012), ao realizar avaliação sensorial em 21 cultivares de maçãs, dentre estas **Fuji** e **Gala**, verificaram valores mais elevados de suculência para a cultivar **Fuji** e, para **Gala**, sabores mais adstringentes e ácidos, refletindo maior preferência para cultivar **Fuji**. Bonany et al. (2014), realizaram estudo com 11 cultivars de maçãs de diversas regiões a fim de avaliar a preferência dos consumidores em relação às diferentes

cultivares. Dentre diversos aspectos sensoriais avaliados, os autores concluíram que, para cultivar **Fuji**, houve tendência à sensação doce, o que foi relevante na sua preferência dentre as demais cultivares.

Diante disso, através dos testes, foi possível perceber que os tratamentos alteraram o sabor dos purês de maçãs das duas cultivares. Entretanto, o tratamento com eritorbato de sódio 7 % em maçã **Fuji** conferiu menor alteração nesse atributo, sendo indicado como preferido pelos avaliadores.

Tabela 14. Aceitação dos purês de maçã das cultivares Fuji e Gala tratadas com eritorbato de sódio 7 %.

Escala Hedônica	Preferência (%)	
	Purê de maçã Fuji	Purê de maçã Gala
9 - Gostei extremamente	6	7
8 - Gostei muitíssimo	13	9
7 - Gostei Muito	30	13
6 - Gostei ligeiramente	28	38
5 – Indiferente	2	9
4- Desgostei Ligeiramente	13	18
3- Desgostei muito	8	4
2 - Desgostei muitíssimo	0	1
1 - Desgostei Extremamente	0	1

5. Influência da ação do micro-ondas na inativação enzimática

Através de testes preliminares no equipamento de micro-ondas experimental foi constatada redução na atividade enzimática quando foram variados a potência, o tempo e a temperatura. De acordo com a figura 47, foi possível verificar diferença ($p \leq 0,05$) estatística entre essas combinações para as diferentes cultivares e tratamentos. Uma expressiva redução de 85,33 % para PFO e de 62,39 % para PO no tratamento com 1400 W de potência, tempo de 2 min e temperatura de 50 °C, na cultivar **Gala**. Entretanto, para a cultivar **Fuji**, o tratamento que afetou significativamente a ação enzimática foi

observado na potência de 1400 W, tempo de 30 s e temperatura de 30 °C, evidenciando a diferença nos comportamentos enzimáticos das duas cultivares. Valderrama (2001), avaliou o teste de estabilidade enzimática do extrato de maçã das cultivares **Fuji** e **Gala**, verificando que variações da atividade enzimática de polifenoloxidase e peroxidase, frente ao tratamento térmico, apresentam um comportamento não-linear, além de verificar maior redução enzimática na cultivar **Gala**. Entretanto, o autor concluiu que houve inativação quase total dessas enzimas e que isto compromete as características sensoriais do produto, visto que, uma série de mudanças indesejáveis ocorrem nos alimentos tratados pelo calor, como alterações no sabor, na cor e na textura, além da destruição de vitaminas (ELES-MARTÍNEZ et al., 2007; BUTZ et al., 2002)

Nesse estudo, ao utilizar a combinação dos três parâmetros mencionados acima, foi possível identificar bom aspecto sensorial do produto, mesmo com alta inativação enzimática.

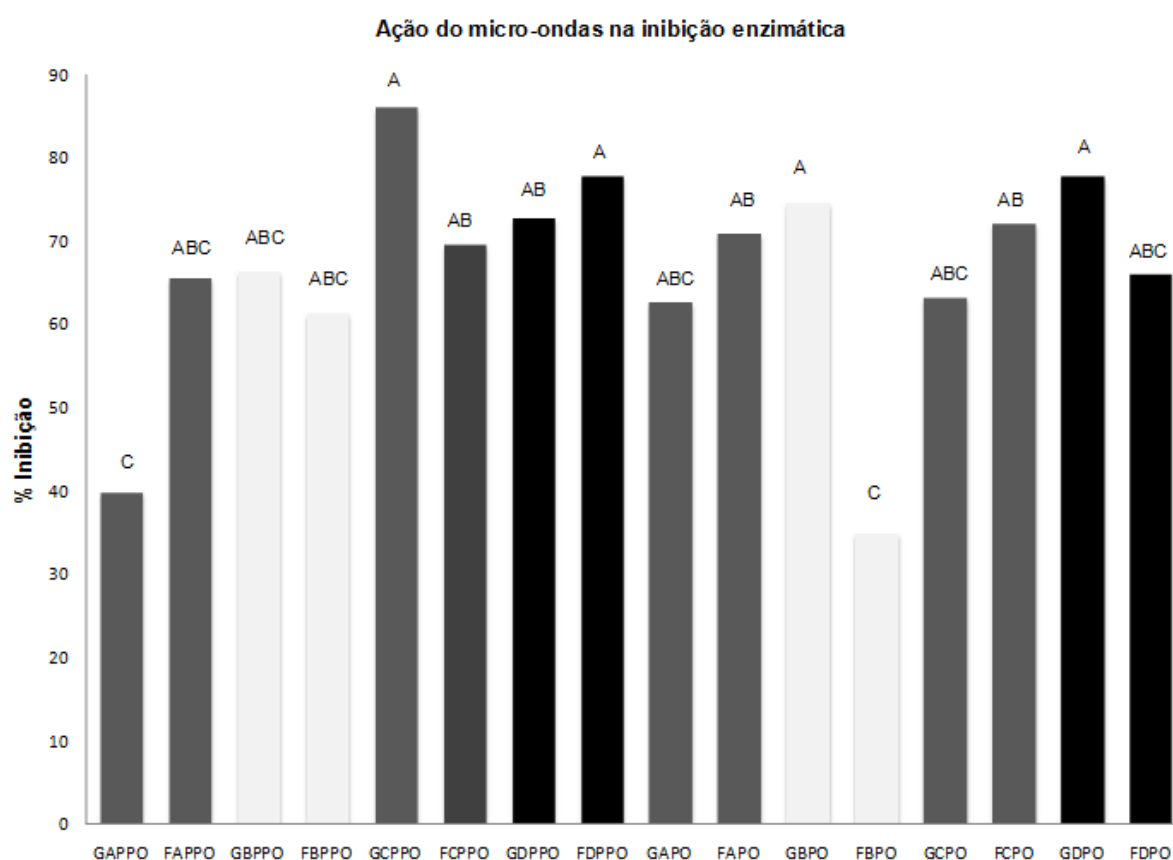


Figura 47. Tratamento com micro-ondas na inibição enzimática. Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo *Teste de Duncan* ($p \leq 0,05$). GA-

Maçã cultivar **Gala**, tratamento com 1400W, 1min e 60°C; **FA**- Maçã cultivar **Fuji**, tratamento com 1400W, 1min e 60°C; **GB**- Maçã cultivar **Gala**, tratamento com 600W, 2min e 60°C; **FB** - Maçã cultivar **Fuji**, tratamento com 600W, 2min e 60°C; **GC**- Maçã cultivar **Gala**, tratamento com 1400W, 2min e 50°C; **FC** - Maçã cultivar **Fuji**, tratamento com 1400W, 2min e 50°C; **GD**- Maçã cultivar **Gala**, tratamento com 1400W, 30 s e 70°C; **FD**- Maçã cultivar **Fuji**, tratamento com 1400W, 30 s e 70°C; **PPO**- Polifenoloxidase; **PO** = Peroxidase.

5.1.1 Ação de micro-ondas experimental sob a microbiota

Não foram identificadas bactérias do gênero *Salmonella*, *Pseudomonas*, ou *Shigellans* amostras analisadas. Os resultados para *Salmonella* estão de acordo com a legislação brasileira vigente (RDC nº 12/2001 – ANVISA), que não tolera presença deste gênero de bactérias em 25 g de amostra (BRASIL, 2001). Segundo Zaika et al. (1989), alguns parâmetros como temperatura, concentração de cloreto de sódio e pH apresentam influência direta sobre a taxa de crescimento de bactérias do gênero *Shigella* em alimentos. Temperaturas baixas (aproximadamente 10 °C), concentrações de cloreto de sódio em torno de 5,0 % e pH dos alimentos ao redor de 5,5 proporcionam baixa taxa de crescimento de *Shigella* em alimentos. A legislação brasileira RDC nº 12/2001 – ANVISA, estabelece contagem máxima de coliformes termotolerantes (*Escherichia coli*) de 5×10^2 UFC.g⁻¹ (2,7 log UFC.g⁻¹) para frutas frescas, *in natura*, preparadas, sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo direto. Desta forma, os tratamentos analisados neste trabalho estão de acordo com a legislação brasileira vigente, haja vista que a contagem de *E. coli*, em todas as amostras, foi $< 1 \times 10^2$ UFCg⁻¹. Nesse experimento não houve relação entre a ação de micro-ondas em coliformes totais e *E. coli* (Tab. 8).

A ANVISA, através da Instrução Normativa 01, de 7 de janeiro de 2000, regulamentou os padrões de identidade e as características mínimas de qualidade para purês de frutas, relacionado aos bolores e leveduras, estabelecendo valores máximos de 5×10^3 UFCg⁻¹ para purê "*in natura*", congelada ou não, e 2×10^3 UFCg⁻¹ para purê conservada quimicamente e/ou que sofreu tratamento térmico. Neste experimento, ficou evidente a eficiência da ação do micro-ondas na redução de aeróbios mesófilos no tempo de exposição de 60 segundos.

A redução da população de fungos filamentosos (Tab. 12), quando as maçãs foram tratadas com antioxidantes, deve-se ao fato desses também funcionarem como antimicrobianos, além de evidenciar a eficiência do uso do micro-ondas por na redução desses microrganismos.

Cañumir et al., (2002) observaram uma redução de $2 \log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$ a $4 \log_{10} \text{ UFC g}^{-1}$ de *E. coli* em suco de maçã, dependendo do nível de potência (270-900 W) quando variaram o tempo (40, 50, 60 e 90 s). As reduções mais elevadas foram com maior energia e maior tempo de processamento, em temperaturas de 70-76 °C, o que também foi foco neste experimento.

Pierre et al. (2009), ao avaliarem o efeito de forno micro-ondas doméstico (NNT 251 W Inverter, Panasonic, Alemanha), com frequência de 2450 MHz, obtiveram redução de 1 log na contagem inicial de aeróbios mesófilos em maçãs cortadas e tratadas com 0,25 % de extrato de acerola e 2,5 % suco de lima fresco. Alguns fungos, tais como *P. expansum* e *Rhizopus*, foram igualmente reduzidos em 1 e 2 unidades logarítmicas em pêra e pêssago, respectivamente, após tratamento em micro-ondas com 2450 MHz durante 2 min, como descrito por Zhang et al. (2004, 2006). Os resultados relatados por estes autores evidenciam maior eficiência nesse experimento na utilização de micro-ondas experimental *Multiwave 3000*®.

Além disso, o efeito positivo da utilização de micro-ondas experimental na preservação de compostos bioativos vem sendo estudado por alguns autores, como a perda de compostos fenólicos em produtos comerciais e, normalmente, estão relacionados com cultivar, técnicas de processamento e condições de estocagem. A estabilidade dos compostos fenólicos durante aquecimento em micro-ondas por 20 minutos foi avaliada por Liazid et al. (2007), foi demonstrado por estes autores que todos os compostos avaliados (ácidos benzoicos, aldeídos benzoicos, ácidos cinâmicos, catequinas, cumarinas e flavonóis) permaneceram estáveis, quando aquecidos até 100 °C, enquanto que, a 125 °C, houve significativa degradação de epicatequina, resveratrol e miricetina. Os trabalhos acima mencionados justificariam maiores investigações da ação do micro-ondas no purê de maçã após o efeito positivo na redução de mesófilos e fungos filamentosos.

Tabela 15. Contagem de coliformes totais, *Escherichia coli*, aeróbios mesófilos e fungos filamentosos em maçã **Fuji** inteira sanitizada e tratada quimicamente frente a ação de forno de micro-ondas elMultiwave 3000®.

Tratamento	Coliformes totais UFC g ⁻¹	<i>Escherichia coli</i> UFC g ⁻¹	Aeróbios Mesófilos UFC g ⁻¹	Fungos Filamentosos UFC g ⁻¹
1	< 1,0 x 10 ² aB	< 1,0 x 10 ² aB	< 1,0 x 10 ¹ cB	< 4,4 x 10 ² aA
2	< 1,0 x 10 ² aB	< 1,0 x 10 ² aB	< 5,2 x 10 ² aA	< 2,0 x 10 ¹ bC
3	< 1,0 x 10 ² aB	< 1,0 x 10 ² aB	< 5,2 x 10 ¹ bA	< 1,0 x 10 ¹ cC
4	< 1,0 x 10 ² aA	< 1,0 x 10 ² aA	< 1,0 x 10 ¹ cB	< 1,0 x 10 ¹ cB
5	< 1,0 x 10 ² aA	< 1,0 x 10 ² aA	< 1,0 x 10 ¹ cB	< 1,0 x 10 ¹ cB

Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$); **1)** Amostra de maçã inteira sanitizada com hipoclorito de sódio 1%; **2)** Purê de maçã **Fuji**, após ser fatiada, imersa em antioxidante e triturada em liquidificador; **3)** Purê de maçã **Fuji** após passar pela ação do micro-ondas 70°C, 30 s na potência de 1400W; **4)** Purê de maçã **Fuji** após passar pela ação do micro-ondas 70°C, 1 minuto na potência de 1400W; **5)** Controle negativo: Purê de maçã esterilizada por autoclave 121 °C por 15 min.

6. CONCLUSÕES

No período de avaliação (96 h) os tratamentos com ácido eritórbito (5 %) ou com eritorbato de sódio (7 %), foram adequados e melhores do que os demais tratamentos na preservação das características físico-químicas e sensoriais, sendo que o tratamento com eritorbato de sódio (7 %) conferiu menor alteração sensorial no purê de maçã da cultivar **Fuji**. Estes tratamentos também resultaram em maior concentração de compostos fenólicos e menor atividade de polifenoloxidasas e de peroxidases.

O tratamento com micro-ondas, além de reduzir a atividade enzimática, diminuiu a população de micro-organismos mesófilos aeróbios e de fungos filamentosos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M. C.; NUNES, I. F. S.; OLIVEIRA, M. M. A. Perfil microbiológico de purês de frutas comercializadas em Teresina, PI. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 112, p. 78-81, 2003.

AKED, J. Maintaining the post-harvest quality of fruits and vegetables. In: **Fruit and Vegetal Processing: improving quality**. Boca Raton: CRC Press, 2002. Capítulo 7, p. 119 - 149.

AGUAYO, E.; JANSASITHORN, R.; KADER A.A. Combined effects of 1-methylcyclopropene, calcium chloride dip, and/or atmospheric modification on quality changes in fresh-cut strawberries. **Postharvest Biology and Technology**, v. 40, p. 269-278, 2006.

ALVARENGA, L. R.; FORTES, J. M. Cultivares de fruteiras de clima temperado. **Informe Agropecuário**, v. 11, n. 124, p. 3-11, 1985.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.15, n. 1, p. 63-72, 2004.

BARNETT, V.; LEWIS, T. **Outliers in Statistical Data**. 3.ed. New York: John Wiley & Sons, 1994. 608 p.

BIBLE, B. B.; SINGHA, S. Canopy position influences CIELAB coordinates of peach color. **Hort Science**, v. 28, n. 10, p. 992-993, 1993.

BOBBIO, F. O. ; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Varela, 2003. 238 p.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 7 de janeiro de 2000. Regulamento técnico geral para fixação dos

padrões de identidade e qualidade para purê de frutas. **Diário Oficial da União**, nº 6, Brasília, 10 de janeiro de 2000.

BURNETTE, F. S. Peroxidase and its relationship to food flavor and quality: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 42, p. 1-6, 1977.

BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging technologies: chemical aspects. **Food Research International**, v.35, p.279-284, 2002.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary, sources, metabolism, and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

CANO, M. P.; DE ANCOS, B.; MATAALLANA, M.C.; CAMARA, M.; REGLERO, G.; TABERA, J. Differences among Spanish and Latin- American banana cultivars: morphological, chemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**, v. 59, n. 3, p. 411–419, 1997.

CAÑUMIR, J. A.; CELIS, J. E.; DE BRUIJN, J.; VIDAL, L. V. Pasteurization of apple juice by using microwaves. **LWT –Food Science and Technology**, v. 35, n. 5, p. 389–392, 2002.

Banco Regional de Desenvolvimento do Extremo Sul. Superintendência de Planejamento. **Cadeia produtiva da maçã no Brasil: limitações e potencialidades**. Porto Alegre: BRDE, 2011. 44 p.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA (EPAGRI). Centro de Socioeconômica e Planejamento Agrícola. Disponível em http://docweb.epagri.sc.gov.br/website_cepa/Boletim_agropecuário/boletim_maça_n1.pdf. Acesso em: 14 jan. 2016.

CEPEDA, E.; GOMEZ, R. Rheological characteristics of pimento puree: theoretical interpretation. **Journal of Food Science**, v.67, n.7, p. 2734–2738,

2002.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2005.p.785.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990.p.320.

CIMPA - Insumos y Tecnología para la Industria Alimentaria, 2014. **Ficha Técnica Eritorbato de Sódio**. Disponível em: <<http://www.cimpaltda.com/modulo/quimicos/eritorbato%20de%20sodio.pdf>>. Acesso em: 6 nov. 2015.

COUTO, R.C; RIBEIRO, J.A.; VOLCAN, D.; NORA, L.; KROLOW, A. C. Influência do tempo de contato e concentração de antioxidante convencional no purê de maçã da cultivar **fuji** e **gala**. In: Simpósio de Alimentos para Região Sul, 9., 2015. Passo Fundo: UPF, 2015.p. 1-5.

COSTA,F.; PEACE, C.P.; STELLA, S.; SERRA, S.; MUSACCHI, S.; BAZZANI, M.; SANSAVINI, S.; VAN DE WEG, W.E. QTL dynamics for fruit firmness and softening around an ethylene-dependent polygalacturonase gene in apple(*Malus domestica* Borkh.).**Journal of Experimental Botany**, v.61, n. 11, p.3029–3039, 2010.

COROLLARO, M.L.; ENDRIZZI, I.; BERTOLINI, A.; EUGENIO, A.; DEMATTÈ, L.M.; COSTA, F.; BIASIOLI A, F.; GASPERI, F. Sensory profiling of apple: Methodological aspects, cultivar characterisation and postharvest changes.**Postharvest Biology and Technology**, v.77, p.111–120, 2013.

CHIABRANDO, V.; GIACALONE, G.Effect of antibrowning agents on color and related enzymes in fresh-cut apples during cold storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 36, n. 2, p. 133–140, 2012.

ELES-MARTÍNEZ, P.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effects of high intensity pulsed

electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and gazpacho, a cold vegetable soup. **Food Chemistry**, v.102, n.1, p.201-209, 2007.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA (EPAGRI). **A cultura da Macieira**. Florianópolis: GMC/ Empresa de pesquisa Agropecuaria e Extensão Rural de Santa Catarina, v. 2, p. 743, 2002.

FERREIRA, P. Yes, nós temos maçã. Disponível em: http://www.finep.gov.br/imprensa/revista/edicao5/inovacao_em_pauta_5_pag43 Acesso em: 16 jan. 2016.

FERTONANI, H. C. R. **Estabelecimento de um modelo de extração ácida de pectina de bagaço de maçã**, 2006. 82 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006. Disponível em http://www.bicentede.uepg.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=45. Acesso em: 29 nov.2015

FONTES, L.C.B.; SARMENTO, S.B.S.; SPOTO, M.H.F.; DIAS, C.T.S. Conservação de maçã minimamente processada com o uso de películas comestíveis. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v.29, n. 4, p.872-880, 2008.

GERARD, K. A.; ROBERTS, J. S. Microwave heating of apple mash to improve juice yield and quality. **LWT-Food Science and Technology**, v. 37, p. 551–557, 2004.

GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. **Free Radical Biology & Medicine**, v.29, n.11, p.1106-1114, 2000.

IYENGAR, R.; McEVILLY, A.J. Anti-browning agents: alternatives to the use of sulfites in foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 3, p. 60-64, 1992.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, NeusSadaccoPascuet e Paulo Tiglea – São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Versão eletrônica. Disponível

em http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=7&func=selesee&id=1&orderby=1&page=4. Acesso em: 13 jan. 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. Disponível em

[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/2012/lspa_201202.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/2012/lspa_201202.pdf). Acesso em: 15 mai. 2016.

JANZANTTI, N.S.; FRANCO, M.R.B.; WOSIACKI, G. Efeito do processamento na composição de voláteis de suco clarificado de maçã Fuji. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 523-528, 2003.

KALT, W.; FORNEY, C.F.; MARTIN, A.; PRIOR, R.L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 11, p. 4638–4644, 1999.

KENONG, X. An Overview of Arctic Apples: Basic Facts and Characteristics. **New York Fruit Quarterly**, v.21, n.3, 2013.

LAVILLA, T.; PUY, J.; LÓPEZ, M.L.; RECASENS, I.; VENDRELL, M. Relationships between volatile production, fruit quality and sensory evaluation in Granny Smith apples stored in different controlled-atmosphere treatments by means of multivariate analysis. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 47, p. 3791-3803, 1999.

LEA, A. G. H. Enzymes in the production of beverages and fruit juices. In: TUCKER, G. A.; WOODS, L. F. J. (Eds.). **Enzymes in Food Processing**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 223-249.

LEE, Chang Y. Enzymatic browning reaction. In: FRANCIS, F. J. **Encyclopedia of Food Science and Technology**. 2.ed. New York: John Wiley & Sons, 2000. p. 208-218.

LIAZID, A.; PALMA, M.; BRIGUI, J.; BARROSO, C.G. Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatography**, v. 1140, n. 1-2, p. 29-34, 2007.

MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Effect of modified atmosphere packaging on the quality of fresh-cut fruits. **Stewart Postharvest Review**, v. 2, n. 1, p. 1-8, fev. 2006.

MARCUSSI, Diana Gleide. **Desenvolvimento e avaliação das atividades antioxidante e despigmentante in vitro de emulsões múltiplas a/o/a contendo dipalmitato Kójico**. 2012. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação Farmácia-Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Cenário da cadeia produtiva da maçã. Secretaria de Política Agrícola Secretaria de Política Agrícola **Informativo número 54**, ano 6 Vol. 54, março de 2013. Disponível em file:///C:/Users/Cliente/Downloads/Informativo_-_Maca_2013_(2)%20(2).pdf. Acesso em: 15 abr. 2016.

MCEVILLY, A.J.; IYENGAR, R. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 32, n.3, p. 253-273, 1992.

MDLULI, K. M. Partial purification and characterisation of polyphenol oxidase and peroxidase from marula fruit (Sclerocaryabirreasp. Caffra). **Food Chemistry**, v. 92, p. 311-323, 2005.

MELO, A. A. M.; VILAS BOAS, E.V. B. Inibição do escurecimento enzimático de banana maçã minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 110-115, jan.-mar. 2006.

NAMIUCHI, N.N.; WOSIACKI, G.; ROCHA, M.A. Avaliação dos sucos de cinco cultivars de maçãs nacionais. Características sensoriais dos sucos das cultivarsFuji, Gala, Golden delicious, Granny Smith e Starkrimson. **Revista Científica e Cultural da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul**, v.7, n. 1, p.15-22, 1992.

NASCIMENTO, R.J. **Potencial antioxidante de resíduo agroindustrial de goiaba**. Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pernambuco, 2010 disponível em http://www.pgcta.ufrpe.br/files/dissertacoes/2010/rosilda_do_nascimento.pdf.

NASCIMENTO, R.J.; ARAÚJO, C.R.; MELO, E. A., Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (psidiumguajava l.). **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 2, p. 209-216. 2010.

NICOLAS, J. J.; RICHARD-FORGET, F. C.; GOUPY, P. M.; AMIOT, M. J.; AUBERT, S. Y. Enzymatic browning reactions in apple and appleproducts. **Critical Review inFood Science and Nutrition**, v. 34, n. 2, p. 109–157, 1994.

OLIVEIRA, M. S.; DORS, G. C.; SOUZA-SOARES, L. A.; BADIALE-FURLONG, E. Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais. **Revista Alimentos e Nutrição**, v.18, n.3, p. 267-275, 2007.

OLIVEIRA, T. M.; SOARES, N. F. F.; PAULA, C. D.; VIANA, G. A. Uso da embalagem ativa na inibição do escurecimento enzimático de maçãs. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.29, n.1, p.117-128, 2008.

OSZMIANSKI, J.; WOLNIAK, M.; WOJDYŁO, A.; WAWER, I. Influence of apple purée preparation and storage on polyphenol contents and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 107, n. 4, p. 1473–1484, 2008.

PODSEDEK, A.; WILSKA-JESZKA, J.; ANDERS, B.; MARKOWSKI, J. Compositional characterisation of same apple varieties. **European Food Research & Technology**, v.210, p. 268–272, 2000.

PICCHIONI, G.A.; WATADA, A.E.; WHITAKER, B.D.; REYES, A. Calcium delays senescence related membrane lipid changes and increases net synthesis of membrane lipid components in shredded carrots. **Postharvest Biology and Technology**, v. 9, n. 2, p.235–245, 1996.

PICOUET, P. A.; LAND, A.; ABADIAS, M.B.; CASTELLARI, M.; VIÑAS I. Minimal processing of a Granny Smith apple purée by microwave heating. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 4, p. 545–550, 2009.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O. **Análise sensorial para a avaliação da qualidade dos alimentos**. Rio Grande do Sul: FURG, 2006. 268 p.

RESCIGNO, A. F.; SOLLAI, F.; PISU, B.; RINALDI, A.; SANJUST, E. Tyrosinase Inhibition: General and Applied Aspects. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v.17, n.4, p.207–218, 2002.

QUENZER, N. M.; BURNS, E. E. Effects of microwave, steam and water blanching on freeze-dried spinach. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 2, p. 410-413, 1981.

RAHMAN, S. M. E.; JIN, Y-G.; OH, D-H. Combination treatment of alkaline electrolyzed water and citric acid with mild heat to ensure microbial safety, shelf life and sensory quality of shredded carrots. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 28, n. 3, p. 484-491, 2011.

RAPEANU, G.; LOEY, A. V.; SMOUT, C.; HENDRICKX, M. Effect of pH on thermal and/or pressure inactivation of vitinase (Vitis vinifera sativa) polyphenol oxidase: a kinetic study. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 5, p. 301-307, 2005.

RAYBAUDI-MASSILIA, R.M.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; SOBRINO-LÓPEZ, A.S.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Shelf-life extension of fresh-cut “Fuji” apples at different ripeness stages using natural substances. **Postharvest Biology and Technology**, v.45, n. 2, p. 265–275, 2007.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RIZZON, L. A.; BERNARDI, J.; MIELE, A. Características analíticas dos sucos de maçã Gala, Golden delicious e Fuji. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas–SP, v.25, n.4, p. 750-756, Out./Dez. 2005.

RIBEIRO, J. A.; SEIFERT, M.; MORENO, M. B.; NOGUEIRA, D.; SILVEIRA, C. F.; CANTILLANO, R. F. F. Avaliação de agentes antioxidantes na preservação de compostos bioativos em maçã cv. Gala minimamente processada. In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 5., 2015, Bento Gonçalves. Alimentação e saúde. Bento Gonçalves: SBCTA-RS, 2015.

RIBEIRO, J. A.; SEIFERT, M.; NORA, L.; CANTILLANO, R. F. F. Avaliação físico-química de maçãs cv. fuji minimamente processadas, tratadas com antioxidantes e armazenadas sob refrigeração. In: SIMPOSIO DE

ALIMENTOS, 9., 2015, Passo Fundo. A indústria de alimentos e a saúde do consumidor. Passo Fundo: UPF, 2015.

RIBEIRO, J. A.; SEIFERT, M.; NORA, L.; CANTILLANO, R. F. F.; SILVEIRA, C. F. Maçã cv. Fuji minimamente processada e tratada com difentes antioxidantes: atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. In: SIMPOSIO DE ALIMENTOS, 9., 2015, Passo Fundo. A indústria de alimentos e a saúde do consumidor. Passo Fundo: UPF, 2015.

RIBEIRO, J. A.; SEIFERT, M.; NORA, L.; CANTILLANO, R. F. F. Maçã cv. Gala minimamente processada e tratada com antioxidantes: quantificação de compostos fenólicos totais e de atividade antioxidante. In: SIMPOSIO DE ALIMENTOS, 9., 2015, Passo Fundo. A indústria de alimentos e a saúde do consumidor. Passo Fundo: UPF, 2015.

ROUSSEUW, P. J.; LEROY, A. M. Robust Regression and Outlier Detection. John Wiley & Sons, New York, 1987, Chapter 2.

SANONER, P.; GUYOT, S.; MARNET, N.; MOLLE, D.; DRILLEAU, J. F. Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.). **Alimentos**, Campinas – SP, v. 24, n. 3, p. 347-352, Jul./Set. 2004.

SALUSJÄRVI, T.; KALKKINEN, N.; MIASNIKOV, A. Cloning and Characterization of Gluconolactone Oxidase of *Penicillium cyaneo-fulvum* ATCC 10431 and Evaluation of Its Use for Production of d-Erythorbic Acid in Recombinant *Pichia pastoris*. **American Society for Microbiology**, v. 70, p. 5503-5510, 2004.

SAPERS, G. M.; MILLER, R. L. Browning inhibition in fresh-cut pears. **Journal Food Science**, v. 63, n. 2, p. 342-346, 1998.

SAS INSTITUTE. SAS user's guide: statistics, version 9.1. Cary: **SAS Institute**, 2002.

SMITH, P. K.; KROHN, R. I.; HERMANSON, G. T.; MALLIA, A. K.; GARTNER, F. H.; PROVENZANO, M. D.; FUJIMOTO, E. K.; GOEKE, N. M.; OLSON, B. J.; KLENK, D. C. Measurement of protein using bicinchoninic acid. **Analytical Biochemistry**, v. 150, n. 1, p.76-85, 1985.

SULAIMAN, A.B.; MING, J.A.; FARID, A.M.; SILVA, F.A. Thermosonication for polyphenoloxidase inactivation in fruits: Modeling the ultrasound and thermal kinetics in pear, apple and strawberry purees at different temperatures. **Journal of Food Engineering**, v. 165, p. 133–140, 2015.

SON, S.M.; MOON, K.D.; LEE, C.Y. Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. **Food Chemistry**, v. 73, p. 23-30, 2001.

TORALLES, R. P.; VENDRUSCOLO, J.L.; VENDRUSCOLO, C.T.; DELPINO, F.A. B.; ANTUNES, P.L. Properties of polyphenol oxidase and peroxidase from Granada clingstone peaches. **Journal of Food Technology**, v. 8, n. 3, p. 233-242, 2005.

TORTOE, C.; ORCHARD, J. E.; BEEZER, A. Prevention of enzymatic browning of apple cylinders using different solutions. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, n. 12, p. 1475–1481, 2007.

VALDERRAMA, P.; MARANGONI, F.; CLEMENTE, E. Efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em maçã (*Mallus communis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n. 3, p. 321-325, 2001.

VÁMOS-VIGYÁZÓ, L. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 49-127, 1981.

VAN LELYVELD, L. J.; GERRISH, C.; DIXON, R. A. **Enzyme activities and waste materials**. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, p. 75-119, 1999.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILAN, L.A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria,v.38, n.4, p.1184-1192, 2008.

WILEY, R.C. **Minimally processed refrigerated fruits and vegetables**. London:Chapman e Hall, 1994.357 p.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Suco de maçã. **In: Tecnologia de bebidas**. VENTURINI FILHO, W. G. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. Capítulo12. p. 255-288.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C. C.; DENARDI, F.; CAMILO, A. P. Apple varietiesgrowing in subtropical areas: thesituationof Santa Catarina – Brazil. **Fruit Processing**, Schönborn, v.12, n.1, p.19-28, Jan. 2002.

WOSIACKI, G.; PHOLMAN, B. C.; NOGUEIRA, A. Características de qualidade de cultivares de maçã: avaliação físico-química e sensorial de quinze cultivares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas – SP, v. 24, n. 3, p. 347-352, Jul./Set, 2004.

WOSIACKI, G.; SATAQUE, E. Y.; MORAES, M. A. C.; SICHIERI,V. L. F. S.; CERIBELLI,M.I.P.F.; NAMIUCHI,N.N.; CESAR,E.O. Avaliação sensorial do suco de maçã Gala com atividade controlada de polifenoloxidase. **Alimentos & Tecnologia**, São Caetano do Sul - SP, v. 3, n. 22, p. 59-62, 1989.

YAM, K. L.; PAPADAKIS, S. E.A simple digital imaging method for measuring andanalyzing color of food surfaces.**Journal of Food Engineering**,v. 61, p. 137–142,2004.

ZAICA, L. L.; ENGEL, L. S.; KIM, A. H.; PALUMBO, S. A. Effect of sodium chloride, pH and temperature on growth of *Shigella*flexneri. **Journal of Food Protection**, v. 52, p. 356 – 359, 1989.

ZHANG, Z.; PANG, X.; JI, Z.; JIANG, Y. Role of anthocyanin degradation in litchi pericarp browning. **Food Chemistry**, v. 75 , p. 217–221, 2001.

ZHANG, H.; ZHENG, X.; SU, D. Postharvest control of blue mold rot of pear by microwave treatment and *Cryptococcus laurentii*. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 3, p. 539–544, 2006.

APÊNDICE 1

EMBRAPA CLIMA TEMPERADO/UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS – UFPel

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS - PPGCTA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO: PRESERVAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS NA ELABORAÇÃO DE PURÊ DE MAÇÃ (*Malus Domestica Borkh*)

OBJETIVO: Fui informado(a) de que o objetivo do projeto é avaliar as características sensoriais de sabor de purê de maçã das cultivares Fuji e **Gala** frente à utilização de dois antioxidantes eficientes na redução do escurecimento enzimático.

JUSTIFICATIVA: Essa pesquisa tem a finalidade de definir um antioxidante eficaz na redução do escurecimento enzimático em purês de maçãs das cultivares **Fuji** e **Gala** e que esse não altere o sabor do produto final. A pesquisa seguirá um procedimento de análise sensorial com provadores os quais receberão amostras das purês das duas cultivares **Fuji** e **Gala** e irão avaliá-las a fim de detectar diferença em relação ao o padrão.

RISCOS E POSSÍVEIS REAÇÕES: Fui informado (a) de que os riscos decorrentes da participação na pesquisa são apenas para pessoas alérgicas a algum ingrediente e/ou ao produto. Declaro que não possuo nenhum tipo de alergia aos antioxidantes que serão utilizados (Ácido Eritórbico e Eritorbato de sódio) e/ou reação adversa a estes produtos e/ou da fruta.

BENEFÍCIOS: O benefício de participar desta pesquisa relaciona-se ao fato que os resultados serão incorporados ao conhecimento científico, situações de ensino-aprendizagem e agregação de valor a cadeia da maçã.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA: A minha adesão à pesquisa ocorrerá de forma voluntária sem custos e nenhum tipo de penalidade será aplicado caso não seja do meu interesse participar. Possuindo o direito e a liberdade de retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a minha pessoa.

CONFIDENCIALIDADE: Estou ciente que a minha identidade permanecerá confidencial durante o estudo e que os dados coletados só serão utilizados para fins de pesquisa.

Consentimento Pós-Informação

Eu, _____, endereço _____, telefone _____, fui informado sobre o que a pesquisadora Ana Cristina Krolow quer fazer e porque precisa da minha colaboração e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser. Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

Data: ____/____/____

Assinatura do participante

Assinatura

do

Pesquisador

Responsável

APÊNDICE 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS - PPGCTA EMBRAPA – CLIMA TEMPERADO

Nome _____
____/____/____

Data

Você vai receber uma amostra padrão (P) e duas amostras codificadas.

Prove o padrão e após as amostras em *Teste* e diga qual das amostras é idêntica ao padrão em sabor fazendo um círculo em volta do seu código.

Pares

Código das amostras

1° Par

2° Par

Comentários _____

APÊNDICE 3

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS - PPGCTA EMBRAPA – CLIMA TEMPERADO

Nome _____
_____/_____/_____

Data

Indique em cada par se percebe ou não a diferença em sabor

Código das amostras

Sim

Não

_____	_____	_____

_____	_____	_____

No último par indique a melhor amostra fazendo um círculo na volta de seu código

Comentários _____

APÊNDICE 4

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS - PPGCTAEMBRAPA – CLIMA TEMPERADO

Nome _____ Data ____/____/____

Você vai receber duas amostras codificadas, de purê de maçã para provar.

Prove da esquerda para a direita e diga qual das amostras é sua preferida.

Eu prefiro a amostra nº _____

Diga o quanto você gostou das amostras testadas.

Para isto faça um x ao lado da expressão que representa o quanto você gostou:

Amostra _____

Amostra _____

☐ gostei extremamente

☐ gostei extremamente

☐ gostei muitíssimo

☐ gostei muitíssimo

☐ gostei muito

☐ gostei muito

☐ gostei ligeiramente

☐ gostei ligeiramente

☐ indiferente

☐ indiferente

☐ desgostei ligeiramente

☐ desgostei ligeiramente

☐ desgostei muito

☐ desgostei muito

☐ desgostei muitíssimo

☐ desgostei muitíssimo

☐ desgostei extremamente

☐ desgostei extremamente

Comentários:

